EXPERIENTIA

REVUE MENSUELLE DES SCIENCES PURES ET APPLIQUÉES
MONATSSCHRIFT FÜR DAS GESAMTE GEBIET DER NATURWISSENSCHAFT
RIVISTA MENSILE DI SCIENZE PURE E APPLICATE
MONTHLY JOURNAL OF PURE AND APPLIED SCIENCE

Editores:
A. v. MURALT · L. RUZICKA · J. WEIGLE
Bern Zürich Genève
Redactor: H. MISLIN, Basel

UNIVERSITY OF HAWAII
JUL 8 1948

VERLAG BIRKHÄUSER AG. · BASEL 10
SUISSE - SCHWEIZ - SVIZZERA - SWITZERLAND

Vol. IV - Fasc. 5 15. V. 1948 Fr. 2.50

SOMMAIRE - INHALT - SOMMARIO - CONTENTS

H. FICKER: Synoptisch-meteorologische Forschung in der Gegenwart (Schluß) 165
O. MEYERHOF: New Investigations on Enzymatic Glycolysis and Phosphorylation 169
M. FLORKIN: La biologie des hématinoprotéides oxygénables 176

Brèves communications - Kurze Mitteilungen - Brevi comunicazioni - Brief Reports

E. SCHRAUFSTÄTTER: Die polarographische Untersuchung von Chalkonen und Flavanonen 192
N. KENT et M. MACHEBŒUF: Existence de sels biliaires et de cérébrosides associés à des protéines chez *Moniezia expansa* (Recherches biochimiques sur les Cestodes) 193
E. A. ZELLER: Über ein Adenosintriphosphorsäure (ATP) spaltendes Enzym der Schlangengifte 194
S. MARKEES und F. W. MEYER: Zum Problem des Stoffwechsels der Brenztraubensäure *in vivo* (II. Mitteilung) 195
J. FISCHLEWITZ und K. BUCHER: Über den Angriffspunkt des Morphins am Atemzentrum 196
H. HAUSER: Hautwucherungen mit basophil granulierten Zellen beim Hund 197
J. GERGELY: Some Remarks on the Aglucosuric Blood Sugar Concentration (Disputanda) 198
E. SARTORI: Microburetta di precisione senza rubinetti (Pro Laboratorio) 199

Nouveaux livres - Buchbesprechungen - Recensioni - Reviews

Zum Wasserhaushalt des Schweizer Hochgebirges. Schriften von O. Lütschg-Loetscher (Ref. H. Schmaßmann) 200
Fatty Acids, their Chemistry and Physical Properties. By K. S. Markley (Interscience Publishers, Inc., New York, 1947) (Ref. H. Süllmann) 201
Livres reçus - Eingegangene Bücher - Libri pervenuti - Books received 202

Informations - Informationen - Informazioni - Notes

Eindrücke von einer Amerikareise - Tschechoslowakei - Corrigenda 202/204

Lonza

ELEKTRIZITÄTSWERKE UND CHEMISCHE FABRIKEN · AKTIENGESELLSCHAFT
FABRIKEN IN GAMPEL, VISP, SINS · VERWALTUNG UND VERKAUFSBÜRO IN BASEL

Ammoniak, flüssig und wasserfrei, Salmiakgeist, Salpetersäure und Mischsäure aller Grädigkeiten

Ammonsulfat, Natriumnitrat, Ammonnitrat, Natriumnitrit, Natriumazid in besonders reiner Qualität für technische Zwecke

Formaldehyd, Acetaldehyd, Paraldehyd, Crotonaldehyd, Essigsäure, Eisessig, Essigsäure-Anhydrid, Natriumacetat, Pentaerythrit

Methyl- und Butylalkohol und deren Acetate, Isopropylalkohol

Aceton, Äthylacetat und Speziallösungsmittel · Cellulose-Acetat in allen Qualitäten

Dicyandiamid, Guanidinnitrat · Nitrobenzol, Anilin, Acetanilid

Die «Experientia» erscheint am 15. jedes Monats und kann durch jede Buchhandlung oder direkt beim Verlag bezogen werden. Jahresabonnement Fr. 24.—, Ausland sFr. 28.—; Einzelnummer Fr. 2.50.

Alle redaktionellen Zuschriften sind ausschließlich an den Verlag zu richten; Redaktionsschluß 35 Tage vor Erscheinungstermin.

Die Autoren erhalten 50 Gratisseparata im Format 14,5 × 21 cm ohne Umschlag. Die Kosten für weitere Separata und für Umschläge sind beim Verlag zu erfragen. Separata sind vor dem Druck der Zeitschrift zu bestellen.

Insertionspreise: 1/1 Seite Fr. 200.—, 1/2 Seite Fr. 120.—, 1/4 Seite Fr. 70.—, 1/8 Seite Fr. 40.—. Für 6 Inserate 5%, für 12 Inserate 10% Rabatt. Aufträge an den Verlag.

L'«Experientia» paraît le 15 de chaque mois. Vente et abonnement dans toutes les librairies ou chez l'éditeur. Abonnement fr. 24.— par an pour la Suisse, pour l'étranger fr.s. 28.—; le numéro fr. 2.50.

Adresser toute correspondance touchant la rédaction exclusivement à l'éditeur; dernier délai d'admission pour les manuscrits: 35 jours avant la parution.

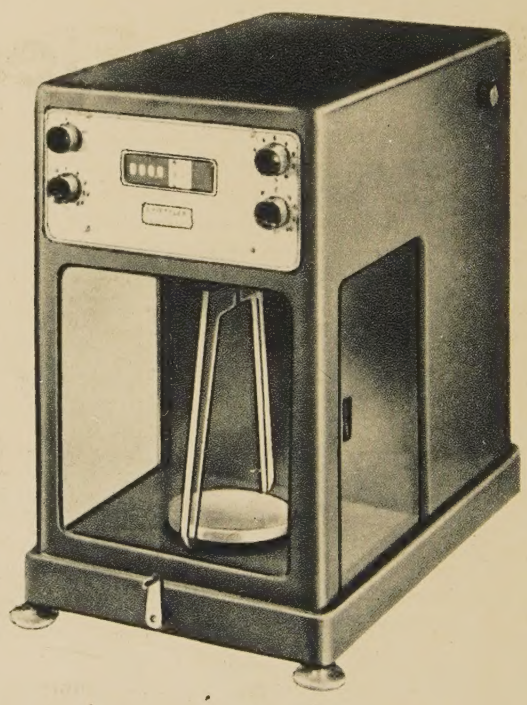
Les auteurs recevront gratuitement 50 tirés à part de format 14,50 sur 21 cm, sans couverture. Pour le prix d'un nombre plus grand et pour la couverture s'adresser à l'éditeur.

Annonces: 1/1 page fr. 200.—, 1/2 page fr. 120.—, 1/4 page fr. 70.—, 1/8 page fr. 40.—. Rabais: 5% pour 6 annonces, 10% pour 12 annonces. Demandes à l'éditeur.

Verlag Birkhäuser AG., Basel 10 (Schweiz), Elisabethenstraße 15
Telephon (061) 49800, Telegrammadresse: Edita Basel

EXPER.

Printed in Switzerland – E. Birkhäuser & Co., Basel

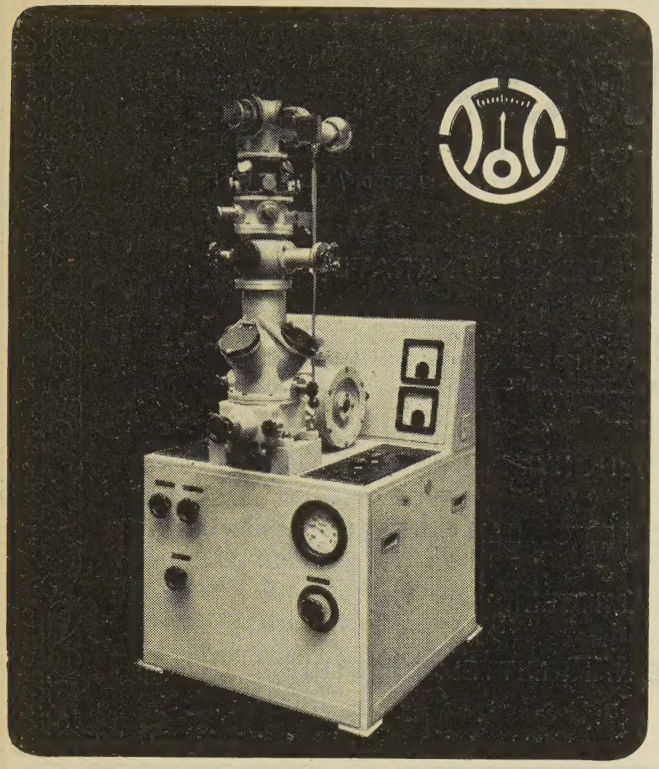


Analysenwaagen (Schnellwaagen)
Maximalbelastung 200 g, optischer Bereich 100 mg,
Ablesegenauigkeit je nach Type 1/10, 1/20 mg

E. METTLER Präzisionsapparate
Küsnacht-Zürich Telephon (051) 34 05 53

Elektronen-Diffraktographen

für Feinstrukturuntersuchungen der Materie



Trüb, Täuber & Co. AG.

Fabrik elektrischer Meßinstrumente und wissenschaftlicher Apparate, Zürich

PREXA

(Patent angemeldet)

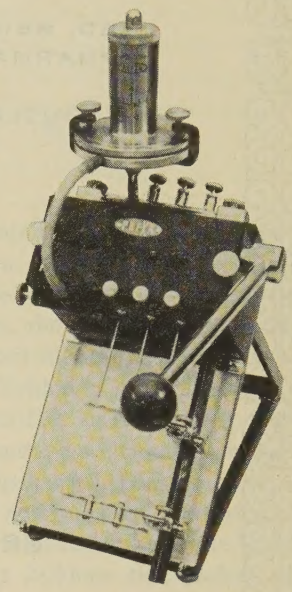
DOSIER- UND EINFÜLLAPPARAT FÜR AMPULLEN

LEISTUNG: bis zu **3000 Ampullen in der Stunde**

DOSIERUNG: mittelst Skala einstellbar

MATERIAL: Sämtliche, mit der Flüssigkeit in Berührung kommende Teile sind **rostfrei** und **säurebeständig**

Prospekte und unverbindliche Vorführung



H. WULLSCHLEGER, BASEL

Telephon (061) 4 89 29 — Unterer Heuberg 4

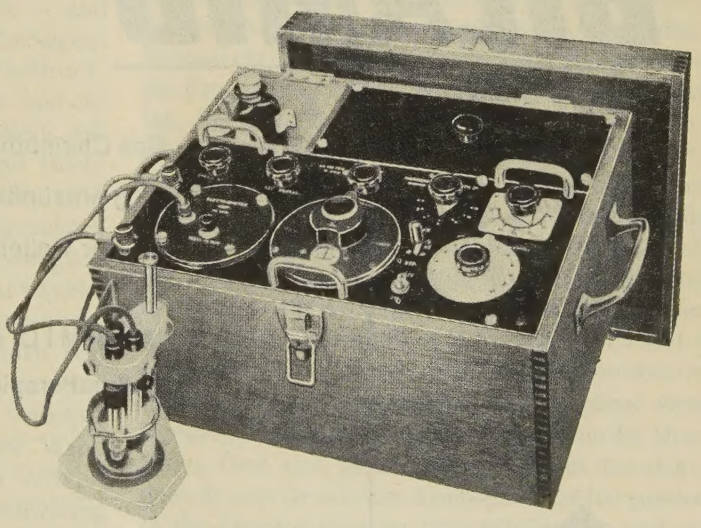
Marconi Electrometer TF 511-D

Elektrometer mit hohem Eingangswiderstand zur Messung kleiner Potentialdifferenzen. Speziell entwickelt für die Bestimmung des pH mittels der mit dem Gerät gelieferten Glaselektroden. Kompensatorskalen geeicht in pH und mV. Bei Betrieb als mV-Meter geeignet zur Messung von rH oder Oxydationspotentialen.

Hauptsächliche Daten:
Bereich: 0—14 pH, erster Teilstrich 0,02 pH
0—1400 mV, erster Teilstrich 2,0 mV
Genauigkeit: ± 0,02 pH, ± 2 mV ± 0,2 %
Empfindlichkeit: besser als 0,02 pH oder 1 mV.

Typ TF 511-D batteriegespiesen (9 + 4,5 + 1,5 V) komplett, mit Elektrodenkette, Batterien und Puffertabletten **Fr. 1485.—**

(Ebenfalls lieferbar mit stabilisiertem Netzteil)



Wir führen weitere Geräte der Marken RADIOMETER und MACBETH. Auskünfte und Unterlagen durch die Generalvertretung

SEYFFER

SEYFFER & CO. AG., ZÜRICH

Kanzleistraße 126 - Tel. (051) 25 69 56–59

«GEWO»

ED. GEISTLICH SÖHNE AG. FÜR CHEMISCHE INDUSTRIE
PHARMA-ABTEILUNG WOLHUSEN / LUZERN

PHARMAZEUTISCHE SPEZIALPRÄPARATE
MARKE «GEWO»

AVITOL CALCIUM «GEWO» DECALCIT,
DEVITOL, DEVITOL-HOCHKONZENTRAT
NEOCARBON, PHTALAZOL, SULFOCILLIN

—

PHARMAZEUTISCHE SYNONYMPRÄPARATE

—

PHARMAZEUTISCHE CHEMIKALIEN

—

TIERHEILMITTEL

—

GRUNDSTOFFE FÜR DIE NÄHRMITTELINDUSTRIE

BILAMID

Das Chemotherapeutikum der Wahl zur Behandlung entzündlicher Erkrankungen der Gallenblase, der Gallenwege und des Darmes.

BILAMID erfüllt dabei die Erfordernisse jeder Gallentherapie:

Baktericide Wirkung
Leberzellschutz
Cholerese

Tabletten Ampullen

CILAG

SCHAFFHAUSEN

EXPERIENTIA

Vol. IV - Fasc. 5 Pag. 165–204 15. V. 1948

Synoptisch-meteorologische Forschung in der Gegenwart

Von H. FICKER, Wien

Der Fortschritt in der synoptisch-meteorologischen Forschung *(Schluß)*

Um den Fortschritt in der wissenschaftlichen Auffassung der Wettervorgänge und dessen Rückwirkung auf die Verbesserung des Vorhersagedienstes klarzumachen, muß mit einigen Sätzen die Problematik der Synoptik von ihren Anfängen an betrachtet werden. Heute noch wie vor 80 Jahren ist die durch Linien gleichen Drucks (Isobaren) dargestellte Luftdruckverteilung über einem möglichst großen Erdgebiet die Grundlage der synoptischen Arbeit. Denn der Luftdruck ist lokal wenig beeinflußt, und von allen meteorologischen Elementen kann nur der Luftdruck auf Grund einer strengen Gesetzmäßigkeit, die in der sog. barometrischen Höhenformel zum Ausdruck kommt, auf das Meeresniveau reduziert werden. Obwohl die Luftströmungen in engster Beziehung zur Druckverteilung stehen, können sie wegen der sehr großen Abhängigkeit der Windrichtung und der Windgeschwindigkeit von lokalen Faktoren nicht zur Grundlage der Untersuchung gemacht werden, wie einmal angeregt worden ist. Das in den sog. *Hydrometeoren* (Bewölkung, Niederschlag) sich auswirkende Wetter steht — und das gibt die Möglichkeit zu synoptischen Vorhersagen! — in enger Beziehung zur Druckverteilung: Tiefdruckgebiete (Zyklonen) sind Schlechtwettergebiete, und das gleiche gilt in erster Annäherung für Gebiete mit zyklonaler Krümmung der Isobaren, während Hochdruckgebiete (Antizyklonen) und Gebiete mit antizyklonaler Krümmung der Isobaren im allgemeinen Schönwettergebiete sind. Aufsteigende Luftbewegung in zyklonalen, absteigende Luftbewegung in antizyklonalen Gebieten wurden frühzeitig als Ursachen des Schlecht- und Schönwetters erkannt. Zyklonen und Antizyklonen sind bewegliche Gebilde, sie wandern meistens von Westen nach Osten, und damit verschieben sich auch die zugehörigen Wetterkomplexe. Wenn die isobarischen Gebilde und die mit ihnen verbundenen Wetterzustände sich während der Verschiebung nicht ändern würden, so müßte man nur die Zugrichtung und Zuggeschwindigkeit dieser zyklonalen und antizyklonalen Gebilde kennen, um das Wetter für den nächsten Tag auf Grund der heutigen Karte voraussagen zu können. Als man vor 70 Jahren verdienstliche, statistische Untersuchungen über die Zugstraßen der Zyklonen durchgeführt und die wichtigsten Zugstraßen in Europa festgestellt hatte, war man in der Tat geneigt, das Problem der Wettervorhersage für den nächsten Tag als gelöst zu betrachten — ein Optimismus der Meteorologen, der zu einer großen Enttäuschung der Öffentlichkeit führte. Es gibt in Europa zu viele Zugstraßen der Zyklonen und es fehlten die Kriterien, um im einzelnen Fall zu bestimmen, welche Zugstraße eingeschlagen und mit welcher Geschwindigkeit die Verlagerung erfolgen wird. Dazu kommt, daß während der Verlagerung Zyklonen sich vertiefen oder ausfüllen, daß ihr Aufbau und damit auch die Wetterverteilung im Gebiete der Zyklone sich ändert. Man wußte nichts von der Druckverteilung in größeren Höhen und ihrem Einfluß auf die Wettergestaltung.

Der naheliegenden und einfachen Auffassung, daß die Tiefdruckgebiete warme, die Hochdruckgebiete kalte Luftkörper seien, wurde die Grundlage durch die Beobachtungen höherer Gipfelstationen (Sonnblick, Säntis) entzogen. J. v. HANN[1] wies nach, daß im Gegenteil die Zyklonen kalt, die Antizyklonen warm seien, so daß eine einfache thermische Erklärung dieser Druckgebilde nicht mehr möglich war, besonders nicht, wenn es sich nicht um entstehende, sondern um bereits wohlentwickelte Zyklonen und Antizyklonen handelte. Erst als man die Stratosphäre entdeckte, erkannte man, daß die Feststellung von HANN nur für die unteren Schichten, für die sog. Troposphäre Gültigkeit hatte, daß aber die Stratosphäre über Zyklonen warm und über Antizyklonen kalt ist. Dieses von niemand vorausgesehene Ergebnis der Aerologie eröffnete zunächst insofern keine günstigen Aussichten für die Entwicklung der synoptischen Prognostik, als die Druckverteilung am Boden, die ja durch Vorgänge in allen Höhen der Atmosphäre beeinflußt wird, in zunächst nicht übersichtlicher Weise durch das Zusammenwirken troposphärischer und stratosphärischer Vorgänge entsteht. Wenn zum Beispiel an der Erdoberfläche der Druck an einem Orte sich nicht ändert, so heißt das nicht, daß über diesem Orte in der Atmosphäre nichts passiert, da ja die Druckwirkungen troposphärischer und stratosphärischer Vorgänge einander gerade kompensieren können. Auf solche Verhältnisse ist man zuerst bei der Untersuchung kräftiger troposphärischer Kaltlufteinbrüche aufmerksam geworden, bei denen an der Erdoberfläche wegen des Ersatzes warmer Luft durch kalte, schwe-

[1] J. v. HANN, Wiener Sitzungsber. *100*, 367 (1891).

rere Luft der Druck stark steigen müßte, während er in Wirklichkeit auf hohen Berggipfeln in der Regel und häufig genug sogar auch noch in der Niederung fällt, was nur möglich ist, wenn Einwirkungen aus hohen Schichten die troposphärische Druckwirkung überkompensieren. Auch die Untersuchung des damals noch höchst spärlichen aerologischen Materials stützte diese aus Bergbeobachtungen geschöpfte Erkenntnis. So mißlich es nun für die Prognostik war, daß im täglichen Wetterdienst die Stratosphäre nicht außer Betracht bleiben konnte, so gaben doch andererseits die Beobachtungen auf hohen Berggipfeln schon Anhaltspunkte zumindest für das Vorzeichen der stratosphärischen Druckwirkung.

Aus solchen und ähnlichen Untersuchungen über die Verlagerungen warmer und kalter Luft ergab sich die Auffassung, daß die Zyklonen aus warmen und kalten Luftströmen zusammengesetzt seien, die sich unter dem Einfluß der ablenkenden Kraft der Erdrotation wirbelartig zusammensetzen und einander an der Erdoberfläche verdrängen, woraus sich auch die Verlagerung der Zyklonen erklärt und wobei die Stratosphäre in einem vorerst nur qualitativ bestimmbaren Ausmaße mitwirkt.

Nach Beendigung des ersten Weltkrieges erhielten derartige Untersuchungen einen mächtigen Impuls durch die von V. Bjerknes und seinen norwegischen Mitarbeitern ausgearbeitete *Polarfronttheorie* der Zyklonenbildung[1], durch die die theoretischen Arbeiten von M. Margules[2] wieder aufgenommen und fortgesetzt wurden und in praktischer Beziehung ein derartiger Fortschritt in der synoptisch-prognostischen Praxis erreicht wurde, daß V. Bjerknes selbst von denen als der Begründer der modernen Synoptik anerkannt werden muß, die manche Lehrmeinung der streng norwegischen Schule als zu einseitig ablehnen.

In der ursprünglichen Theorie von Bjerknes spielte die Stratosphäre noch keine Rolle. Die Zyklonenbildung wurde als rein troposphärischer Vorgang aufgefaßt, wobei die Zyklone sich zunächst als wellenartige Störung, als Deformation der Grenzfläche zwischen kalter Polarluft und warmer Subtropikluft entwickelt, mit zwei charakteristischen Grenzflächen (Fronten) an der Erdoberfläche, die zwischen sich den sog. Warmsektor der Zyklone einschließen. Die Weiterbildung geht dann so vor sich, daß der Warmsektor verschwindet, daß in den unteren Schichten nur mehr Kaltluft vorhanden ist, wobei die Zyklone ausgesprochenen Wirbelcharakter annimmt und zu einer «kalten Zyklone» im Sinne von Hann wird, allerdings dann auch schon in das Absterbestadium eingetreten ist. Diese Feststellung der zyklonalen Entwicklungsstadien samt den diagnostischen Kriterien erwies sich in der Folge als für die Synoptik äußerst wichtig.

Äußerlich unterscheidet sich eine gemäß den Anschauungen von Bjerknes konstruierte Wetterkarte von den früheren dadurch, daß auf Grund von Temperaturunterschieden, von Windwechsel und Niederschlagszonen, Wolkenformen und Drucktendenzen die *Fronten* in die Karten eingezeichnet werden, oder auch, wenn der Warmsektor am Boden schon verschwunden ist, die sog. *Okklusion*. Denn das war auch eine der großen Erkenntnisse, daß die Niederschläge im Umkreis einer Zyklone vor allem in den Frontal- oder Okklusionszonen auftreten, weil hier aufsteigende Luftbewegung besonders begünstigt ist. Auf jeden Fall hat der Prognose eine möglichst eingehende, fast nach Rezepten zu erledigende Analyse der Wetterkarte, natürlich unter Mitbenützung des aerologischen Materials, vorauszugehen. Für die Prognosen ist nun wesentlich, daß man das Entwicklungsstadium der für das Prognosengebiet wichtigen Zyklonen feststellt. Zyklonen mit Warmsektoren vertiefen sich in der Regel noch, während okkludierte Zyklonen sich ausfüllen, ihre Beweglichkeit verlieren und absterben. Ebenso hatte Bjerknes erkannt, daß junge Zyklonen sich meistens in der Richtung weiterbewegen, die durch den Isobarenverlauf, bzw. angenähert durch die Windrichtung im Warmsektor angezeigt ist. In dieser Beziehung — rechtzeitige Erkenntnis der Zugrichtung und Zuggeschwindigkeit der Zyklonen — hat sich außerdem nach dem ersten Weltkrieg die Aufnahme der sog. Drucktendenz (Größe und Vorzeichen der Druckänderung während der 3 Stunden vor der Beobachtung) als äußerst nützlicher Behelf bewiesen. Die Gebiete stärksten Druckfalles zeigen im allgemeinen zuverlässig an, wohin die Zyklone zieht, und lassen in Verbindung mit der Größe der Drucksteiggebiete einen Schluß auf die Verlagerungsgeschwindigkeit zu. Kann man aber die Lage des Tiefdruckkernes für den nächsten Tag und den Verlauf der Fronten bzw. der Okklusionszone voraussehen, so hat man damit die wichtigsten Voraussetzungen zur Ausarbeitung einer Kurzfristprognose.

Von selbst führte die Polarfronttheorie — man unterschied übrigens bald zwischen einer «Arktikfront» und einer in niedrigeren Breiten verlaufenden «Polarfront» — zum genaueren Studium der an der Zyklonenbildung in mittleren und höheren Breiten beteiligten Luftmassen und ihrer Herkunft. Man unterschied Arktikluft, Polarluft, Tropikluft und Äquatorialluft kontinentaler oder maritimer Herkunft, die ihre charakteristischen Eigenschaften in Gebieten erhalten, in denen sie sich lange aufhalten, in der Regel also im Gebiete stationärer Hochdruckgebiete (Antizyklonen), denen sie entquellen. Bei der Wanderung der Luftmassen wandeln sie sich in charakteristischer, für die Prognose wichtiger Weise um, vor allem in den untersten, der Einwirkung der Erdoberfläche am meisten ausgesetzten Schichten. So war zum Beispiel schon lange bekannt, daß bei Kaltluftvorstößen in Europa aus Nordwesten die Luft bei ihrer langen Wanderung über den nordatlantischen Ozean im Winter in den bodennahen

[1] V. Bjerknes, Dynamische Meteorologie (Braunschweig 1912/13).
[2] M. Margules, Meteor. Z. *23*, 241 (1906) – J.-v.-Hann-Band 243 (1906).

Schichten durch das warme Wasser des Ozeans so stark angeheizt wird, daß bei dem Einbruch in Mitteleuropa der Temperaturrückgang nur in höheren Lagen sich auswirkt, während am Boden sehr oft Erwärmung auftritt (maskierte Kälteeinbrüche), während umgekehrt bei dem Einbruch kontinentaler Arktikluft aus Nordosten der Erdboden im Winter eher konservierend auf die Kaltluft wirkt. Selbstverständlich kommen für andere Kontinente wieder andere Quellgebiete der Kalt- und Warmluftmassen in Betracht. Als wichtiger Behelf für die Verfolgung der Luftmassen bei ihren Wanderungen erweist sich dabei die sog. «äquivalentpotentielle Temperatur», eine Größe, in deren Berechnung außer der gewöhnlichen Temperatur auch der Wasserdampfgehalt der Luft einfließt und die ihren ursprünglichen Wert oft lange Zeit trotz aller horizontalen und vertikalen Verschiebungen behält, so daß sie sich zur Identifizierung einer Luftmasse in ihren verschiedenen, zeitlich aufeinanderfolgenden Lagen als sehr nützlich erweist.

Einer der großen Vorteile der Polarfronttheorie, in der viele frühere Erkenntnisse namentlich der österreichischen Meteorologen seit MARGULES subsumiert erscheinen, lag darin, daß im praktischen Wetterdienst das gefühlsmäßige Moment zurücktrat gegenüber einer Befolgung von Anweisungen auf Grund eines Systems, das gelernt und gelehrt werden konnte. Ob und wieweit die wissenschaftlichen Grundlagen des Systems zutrafen, war dabei nicht einmal so wichtig. Man kann sich die Entstehung einer Zyklone auch anders vorstellen als nach der Polarfronttheorie, aber wenn sie einmal gebildet ist, so verläuft die weitere Entwicklung in einer Richtung, die nach äußerlichen, durch eine gute Wetteranalyse feststellbaren Merkmalen abläuft. Es war deshalb der Einfluß der Polarfronttheorie auf Synoptik und Prognostik ein außerordentlicher, wie sie andererseits auch in außerordentlichem Grade auf die weitere wissenschaftliche Forschung auch bei den Meteorologen eingewirkt hat, die der neuen Lehre voller Kritik gegenüberstanden.

Hätte man zur Zeit, in der die Polarfronttheorie zuerst aufgestellt wurde, schon regelmäßig die Druckverteilung in großen Höhen nach Flugzeug- oder Radiosondenaufstiegen kartenmäßig darstellen können, so würde die Einseitigkeit und das in mancher Richtung nicht Zureichende der neuen Lehre von Anfang an vermieden worden sein. Aber in jener Zeit konnte die Einseitigkeit der Theorie eigentlich nur den Meteorologen auffallen, die sich bei ihren Wetteruntersuchungen vor allem auf die kontinuierlichen Registrierungen auf Bergstationen einerseits, auf den Ablauf von Wettervorgängen über sehr große Strecken hin andererseits stützten. In dem ursprünglichen Schema der Polarfronttheorie waren nur Vorgänge in der Troposphäre berücksichtigt, so daß also jedem Ersatz von warmer Luft durch kalte Drucksteigerung, dem entgegengesetzten Vorgang aber Druckfall entsprechen müßte. Nun kommt es aber oft genug vor, daß bei Kaltlufteinbrüchen nicht nur in der Höhe, sondern auch in der Niederung der Luftdruck fällt, was in hohen Breiten stellenweise sogar die Regel ist. Daß man in solchen Fällen in der Höhe kompensierende Vorgänge annehmen muß, darauf wurde bereits hingewiesen, und die Bearbeitung des damals noch äußerst geringfügigen, durch die sog. internationalen Serienaufstiege gewonnenen Materials zeigte, daß die kompensierenden Vorgänge hauptsächlich in der Stratosphäre vor sich gehen müßten, von der ja ebenfalls durch Advektion kalter oder warmer Luft Druckwirkungen ausgehen müssen, die sich den troposphärischen überlagern und in der Regel auch noch das Vorzeichen der Druckänderungen auf hohen Bergobservatorien bestimmen. Es bildete sich die Auffassung, daß hauptsächlich die untere Troposphäre und die Stratosphäre der Schauplatz advektiver Luftmassenverlagerungen seien, während die obere Troposphäre eine mehr passive Rolle insofern spielt, als die hier auftretenden Temperaturschwankungen auf erzwungene Vertikalbewegung von Luftmassen zurückzuführen seien. In das Modell einer Zyklone müssen also notwendig auch stratosphärische Vorgänge einbezogen werden, wobei über das ursächlich genetische Verhältnis der troposphärischen und stratosphärischen Vorgänge zueinander zunächst nichts Sicheres ausgesagt werden konnte.

Dazu kam, daß eine Erklärung der sog. stationären Antizyklonen, von denen in der Polarfronttheorie zunächst überhaupt keine Rede war, ohne Mitbenützung stratosphärischer Vorgänge von vornherein nicht möglich war. Der durch die ganze Troposphäre herrschende hohe Druck kann, da die Antizyklonen bis zum Beginn der Stratosphäre hinauf sehr warm sind, entweder nur auf die Advektion kalter Luft in der Stratosphäre oder auf die Druckwirkung dynamischer Vorgänge, vielleicht aber auch auf ein Zusammenwirken beider Faktoren zurückgeführt werden, ohne daß mangels eines ausreichenden aerologischen Beobachtungsmaterials die Verhältnisse hätten geklärt werden können. Immerhin ließ sich auf Grund der Gipfelregistrierungen nachweisen, daß die Wetterentwicklung selbst in hohem Grade von stratosphärischen Einflüssen abhängig sein müsse. Es wurden sogar eine Reihe von Wetterregeln auf den Druck- und Temperaturverlauf namentlich der alpinen Gipfelstationen aufgebaut, die sich in der Praxis oft als sehr nützlich erweisen. Die beste, d.h. sicherste Regel besagt zum Beispiel, daß das Wetter besser wird oder das Schönwetter anhält, wenn auf den Gipfeln Luftdruck und Temperatur steigen. Die Brauchbarkeit dieser und ähnlicher Regeln wurde während des letzten Krieges in der Schweiz, die fast keine Wetternachrichten aus dem übrigen Europa bekam, durch BIDER geprüft. Weitere Versuche, diese Regeln weiter auszubauen und besser zu fundieren, wurden aber nicht gemacht, da die während des Krieges in allen kriegführenden Staaten entwickelte Radiosondentechnik bald in

ungeahntem Ausmaß die Konstruktion von Höhenwetterkarten gestattete.

Die ersten Topographien der 500-mb-Fläche, die im deutschen Wetterdienst bereits einige Jahre vor dem Krieg bearbeitet und veröffentlicht worden waren, hatten sofort die überraschend große Mitbeteiligung der Stratosphäre an der Wetterentwicklung erkennen lassen. Man sah unmittelbar, daß über den niedrigen kalten Wanderantizyklonen Zyklonen liegen, während warme Antizyklonen bis weit in die Stratosphäre hinaufreichen, wie andererseits gealterte, in den unteren Schichten von Kaltluft umflossene Zyklonen ebenfalls sehr hoch hinaufreichen, mit vertikal stehenden Achsen. Dem Verlauf der Isobaren und der dadurch bestimmten Strömungslinien in den Höhenwetterkarten hatte Scherhag bereits vor dem Kriege eine wichtige Regel entnehmen können: dort, wo in der Höhe die Isobaren divergieren, wird der Druck an der Erdoberfläche fallen, unter Konvergenzgebieten steigen. Scherhag gab folgende Erklärung: Im Divergenzgebiet der Isobaren paßt sich die Windgeschwindigkeit nicht sofort dem verminderten Druckgefälle an; der zu großen Windgeschwindigkeit entspricht dann eine zu große Ablenkung infolge der Erdrotation, die eine Bewegung gegen den Gradienten erzeugt und gewissermaßen Luft aus dem zyklonalen Gebiet herauspumpt, so daß der Druck an der Erdoberfläche fällt — im Gegensatz zur rein thermischen Auffassung der zyklonalen Entwicklung eine dynamische Erklärung[1]. Unabhängig von allen theoretischen Überlegungen wird die Regel heute im Wetterdienst alltäglich und überall in einem Umfange verwendet, daß man sich einen Wetterdienst ohne Höhenkarten kaum vorstellen kann, auch in Ländern, die vor dem Kriege der Höhensynoptik keine oder nur sehr geringe Beachtung geschenkt hatten.

Der Nutzen der Höhenwetterkarten ist damit nicht erschöpft. Schon lange, ehe Topographien zur Verfügung standen, hatte man von einer «*Steuerung*» troposphärischer Vorgänge durch stratosphärische Einwirkung gesprochen, wenn zum Beispiel Kaltluftmassen sich in einer Richtung bewegten, die aus dem durch die kontrollierbare troposphärische Massenverteilung erzeugten Druckfeld nicht erklärbar war. So werden ruhende Kaltluftmassen oft durch einen aus der Stratosphäre stammenden Druckanstieg aktiviert, in Bewegung gesetzt, gewissermaßen gesteuert. Die nun alltäglich zur Verfügung stehenden Topographien ließen aber bald eine «Steuerung» viel umfassenderer Art insofern erkennen, als der Verlauf der Höhenisobaren als maßgeblich für Richtung und Geschwindigkeit der Verlagerung von Fall- und Steiggebieten des Druckes und damit auch für die künftige Druckverteilung erkannt wurde. Als Regel gilt dabei, daß die isallobarischen Druckgebilde sich ungefähr mit der halben Geschwindigkeit der Strömung im 500-mb-Niveau verlagern. Auf Grund dieser Zusammenhänge konnte Scherhag bereits vor dem Krieg «Vorhersagekarten» des Luftdruckes für den nächsten Tag konstruieren, was dann während des Krieges von allen großen Wetterdienststellen nachgeahmt wurde. In vielen Fällen, in denen die Ergebnisse nicht befriedigend waren, konnte nachgewiesen werden, daß in solchen Fällen die Druckverteilung in noch größeren Höhen, die Topographien der 225- oder sogar 96-mb-Flächen entsprechen, die ausschlaggebende Rolle spielt.

Diese Höhensynoptik, verbunden mit einer möglichst genauen Feststellung der Fronten gemäß den Auffassungen der ebenfalls immer weiter ausgestalteten Polarfronttheorie, sind die Fundamente des praktischen Wetterdienstes der Gegenwart. Denn auch die Fronten- und Luftmassensynoptik wurde weiterentwickelt. So konnte Rodewald nachweisen, daß besonders tiefe Zyklonen in oft außerordentlich kurzer Zeit dort zur Entwicklung kommen, wo drei verschiedene Luftströme verschiedener Herkunft zusammentreffen (Dreimasseneck), wobei die Entstehung nach der früher angedeuteten Divergenztheorie erklärt wird. Man kann aber sagen, daß alle theoretischen Erklärungen noch umstritten sind. Was nicht bestreitbar und maßgebend für den Fortschritt in der Prognostik ist, das sind die aufgedeckten Zusammenhänge im Nach-, Neben- und Übereinander der für die Wetterentwicklung wichtigen Erscheinungen. Wobei aber nicht vergessen werden darf, daß die Arbeit des Theoretikers nicht nur die aufgefundenen Zusammenhänge zu erklären hat, sondern in vielen Fällen die besten Wegweiser zur Auffindung noch nicht bekannter Zusammenhänge gibt, wenn auch in dieser kurzen Übersicht auf die Arbeiten von Theoretikern wie Ertel, Rossby, Solberg, Bjerknes jun. und ihren Nutzen für die Weiterentwicklung der synoptischen Wetterkunde nur eben hingewiesen werden kann. Man darf auch nicht vergessen, daß die Forscher, die der modernen Synoptik die Wege gewiesen haben — M. Margules und V. Bjerknes —, Theoretiker gewesen sind. Auch wenn man zum Beispiel der Wellentheorie der Zyklonenentstehung ablehnend gegenübersteht, so werden die Arbeiten über die Stabilität der ersten wellenartigen Deformationen an den Fronten immer ihren Wert behalten.

Von anderen wichtigen meteorologischen Erkenntnissen des letzten Jahrzehnts läßt sich noch nicht sagen, wieweit sie sich in der praktischen Prognostik werden

[1] Eine andere, von Thomas[2] gegebene, dynamische Erklärung starker Druckänderungen an der Erdoberfläche ging von einem Falle aus, in dem an der Erdoberfläche der Druck in 24 Stunden um mehr als 30 mb gestiegen war, während er in der Höhe von 15000 m sich nicht geändert hatte. In der Stratosphäre war erhebliche Abkühlung advektiver Natur eingetreten, während die Temperatur in der Troposphäre sich fast nicht geändert hatte. Dieser Fall ließ sich nicht anders erklären, als daß die in großen Höhen einfließende Kaltluft die unterhalb liegenden troposphärischen Massen zusammengedrückt hatte, wie ein schwerer Stempel, wodurch in der Höhe die Möglichkeit zum Einfließen von Luft geschaffen wurde — ein Vorgang, dem zum weitaus größten Teil der starke Druckanstieg an der Erdoberfläche zuzuschreiben war; also eine Art von Einpumpen von Luft in das betrachtete Gebiet, freilich ein Einpumpen anderer Art als der von Palmén, Scherhag und anderen angenommene Vorgang.

[2] Thomas, Meteor. Z. *52*, 41 (1936).

ausmünzen lassen. In dieser Beziehung muß an die Eiskeimtheorie von BERGERON — ausgebaut durch FINDEISEN[1] — für die Niederschlagsbildung erinnert werden, die eine der wichtigsten Bedingungen für die Niederschlagsbildung zu unserer Kenntnis gebracht und eine Erklärung dafür gegeben hat, warum einmal Regen fällt, während ein anderes Mal bei scheinbar gleicher Wetterlage Regen und Schnee ausbleiben. Noch läßt sich aber nicht absehen, wann diese Erkenntnisse zu einer wesentlichen Verbesserung unserer Niederschlagsvorhersagen im täglichen Dienst führen werden.

Wenn die letzten Jahrzehnte seit Ende des ersten Weltkrieges zu großen Fortschritten in der Prognostik geführt haben, so ist dieser Fortschritt einerseits dem gewaltig anschwellenden, täglich einlaufenden Beobachtungsmaterial, andererseits den Ergebnissen der wissenschaftlichen Forschung zuzuschreiben. Man kann dabei fragen, ob und wann denn die Meteorologen imstande sein werden, wenigstens die alltäglichen Kurzfristprognosen mit absoluter Sicherheit auszuarbeiten bzw. das künftige Wetter mit Sicherheit vorauszuberechnen, da ja die Theoretiker bereits ein Gleichungssystem von genügendem Umfang zur Durchführung derartiger Berechnungen ausgearbeitet haben. V. BJERKNES[2] zum Beispiel hat an die grundsätzliche Möglichkeit einer exakt rechnerischen Lösung des Problems in der Zukunft geglaubt, während SCHMAUSS[3] schon vor langer Zeit die Unmöglichkeit absolut richtiger Prognosen betont hat. Erst ERTEL[4] hat aber nachgewiesen, warum selbst bei streng kausaler Auffassung der meteorologischen Vorgänge eine eindeutige Wettervorhersage für Teilgebiete der Atmosphäre prinzipiell unmöglich sei, weil für die mathematische Behandlung des Problems natürliche Randbedingungen für die willkürlichen Grenzen der Teilgebiete vorhanden sein müßten, was nicht der Fall ist. Jede brauchbare Prognose kann daher grundsätzlich nur eine mit einer Unbestimmtheit behaftete Approximation sein, die natürlich trotzdem ein brauchbares Ergebnis liefert, sofern die Unbestimmtheit unterhalb der Erfordernisse des praktischen Lebens bleibt.

Die Arbeit des Prognostikers wird also nie ein ganz zweifelsfreies Ergebnis liefern können. Mit dieser Einschränkung werden sich die Meteorologen bescheiden und ihr Augenmerk darauf richten müssen, die Approximation immer genauer zu gestalten. Aber nicht nur die Meteorologen, sondern auch die Öffentlichkeit, die absolut richtige Prognosen wünscht, muß sich mit dieser Sachlage abfinden.

Summary

Since the first world war the reliability of weather forecasts based on synoptic maps has been greatly enhanced, owing on the one hand to the extraordinarily increased number of wireless weather reports, on the other hand to new scientific insight into weather developments gained up to now. Of especial importance were the data from high levels of the free atmosphere obtained by radio sounding, by which the construction of weather maps with contours was made possible. Scientific research after the first world war was based on the polar front theory of BJERKNES and his followers and was greatly furthered in the course of time especially by the understanding of the great importance of the occurrences in the stratosphere for weather development.

[1] FINDEISEN, Meteor. Z. *55*, 121 (1938); *56*, 365 (1939).
[2] V. BJERKNES, Meteor. Z. *36*, 68 (1919).
[3] A. SCHMAUSS, Das Problem der Wettervorhersage (Leipzig 1937).
[4] H. ERTEL, Methoden und Probleme der dynamischen Meteorologie (Berlin 1938).

New Investigations on Enzymatic Glycolysis and Phosphorylation

By OTTO MEYERHOF[1], Philadelphia, Pa.

The achievements of the last decades in the fields of enzymology, intermediary metabolism, hormones, and vitamins are so overwhelming that one could be tempted to quote the ironic lines of GOETHE, spoken by the famulus Wagner in *Faust II*, as a serious interpretation of these endeavours:

> Was man an der Natur Geheimnisvolles pries,
> Das wagen wir verständig zu probieren,
> Und was sie einst organisieren ließ,
> Das lassen wir kristallisieren[2].

However, simultaneously with this progress, with the elucidation of the self-sustaining cycles of intermediary enzymatic reactions, and with the purification and crystallization of many enzymes, hormones, vitamins, and viruses, much self-restraint and sobriety has returned. The biochemists and physiologists now repudiate the materialistic fantasies and boastings of their predecessors. In our view the organization of the cell, the living unity itself can not be explained by purely physical and chemical methods. We restrict ourselves, therefore, to the study of the physical and chemical reactions of these organized, self-perpetuating living units.

About 1900 BUCHNER was successful in separating from the living yeast cell the enzymatic system which

[1] Department of Physiological Chemistry, School of Medicine, University of Pennsylvania.
[2] GOETHE's *Faust II:*

> The mystery which for man in Nature lies
> We dare to test, by knowledge led,
> And that which she was wont to organize
> We crystallize instead.

converts sugar to alcohol and CO_2. The same separation was accomplished in 1926 for the glycolytic enzyme system of muscle[1]. Here glycogen is split into two mols of lactic acid per unit of hexose. Later on the same system was brought into solution from many other cells or organs, from brain, chicken embryo, malignant tumors, erythrocytes, and different kinds of bacteria.

The oxidative system is less easily brought into solution, some of its enzymatic components strongly adhering to structural elements—but many enzymes responsible for individual oxidative steps of sugar metabolism were also obtained in extracts.

Besides the insolubility of some components of the oxidative system (cytochromes a and b and cytochrome oxidase) it differs also in another sense from the glycolytic system, viz: there seems to be no common pathway of sugar oxidation in all cells and tissues, although the so-called tricarboxylic acid cycle of Krebs is prevalent in many of them[2]. We restrict our discussion in the following to the anaerobic breakdown, to glycolysis in the stricter sense of this term. Here the pathway is uniform.

Even if the end products of various forms of sugar fermentation are different, and consist instead of lactic acid as in animal tissue, of alcohol and CO_2 as in yeast, of H_2, acetic acid, lactic acid and CO_2 in coli bacteria, or of propionic or butyric acid as in propionic or butyric acid bacteria, all the steps leading from sugar to pyruvate are none the less identical, and only the fate of the pyruvate differs. Moreover, if the pyruvate remains as an end product, glycerol is formed simultaneously as a reduction product[3]. In the case of glycolysis of animal tissues (and also in lactic acid bacteria) the pyruvate reaction is a single reduction step:

$$\underset{\text{(pyruvic acid)}}{CH_3 \cdot CO \cdot COOH} + H_2 \rightarrow \underset{\text{(lactic acid)}}{CH_3 \cdot CHOH \cdot COOH}$$

Furthermore, the steps leading from sugar to pyruvic acid are also the initial steps of the prevalent form of sugar oxidation. (The oxidation of sugar to hexonic acids or of phosphohexoses to phosphohexonic acid is apparently of minor biological importance.) Since pyruvic acid can also be reversibly aminated, forming alanine, and also plays a role in the turnover of fat, it occupies a central position in intermediary cell metabolism.

I shall discuss the subject under three headings:

I. The scheme of intermediaries of glycolysis.
II. The phosphorylating mechanisms.
III. The isolated enzymes.

Our attention will be devoted mainly to the progress in the last eight years, before the Nazi regime in Germany and the second World War disrupted international science and scientific intercourse[1].

I. *The Scheme of Intermediaries of Glycolysis*

This scheme was fully developed between 1932—1939 and has undergone no further change since. All intermediaries from glucose-1-phosphate to phosphopyruvic acid are phosphorylated compounds. Most of them are true phosphoric acid esters, formed by condensation of an alcoholic (OH) group with the third valency H of phosphoric acid; some of them have the phosphate group linked to a carboxyl or carbonyl group. During the years of the development of this scheme some investigators and critics obstinately clung to the idea that this scheme was not ubiquitous, but that some organs were able to glycolyze in a different way by a so-called non-phosphorylating glycolysis. Even now the ghost of this non-phosphorylating glycolysis is still haunting some biochemical laboratories and the desks of some scientific writers. Actually, it never existed. It could be refuted in every instance where an experimental approach was feasible. Mostly the arguments in favor of it were fallacies in themselves: in many enzymatic systems, separated from the cell, the reactivity of glucose and hexosediphosphate (HDP) is altered. Often hexosediphosphate reacts with a much lower speed than sugar or not at all. This was used as an argument against this diphosphate as a common thoroughfare of sugar breakdown. But because of the transphosphorylation mechanism, which will be discussed in the next section, the speed of the global reaction can be much higher than the isolated single reaction steps; hexosediphosphate decomposes in such a system in the presence of free sugar much faster than in the absence of it[2]. The opposite can also be observed; viz.: that hexosediphosphate forms lactic acid under conditions where free sugar does not. Here the very sensitive enzyme which phosphorylates sugar (hexokinase) is destroyed by the extracting procedure.

There is also a positive argument: methyl glyoxal ($CH_3 \cdot CO \cdot COH$) is transformed in the presence of glutathione to lactic acid by a very widespread enzyme[3]. But methyl glyoxal itself, contrary to earlier assumptions, is not a physiological intermediary product of sugar breakdown. It arises from triosephosphate by a non-enzymatic decomposition[4]. In the living cell this reaction surely plays a subordinate role, if a role at all.

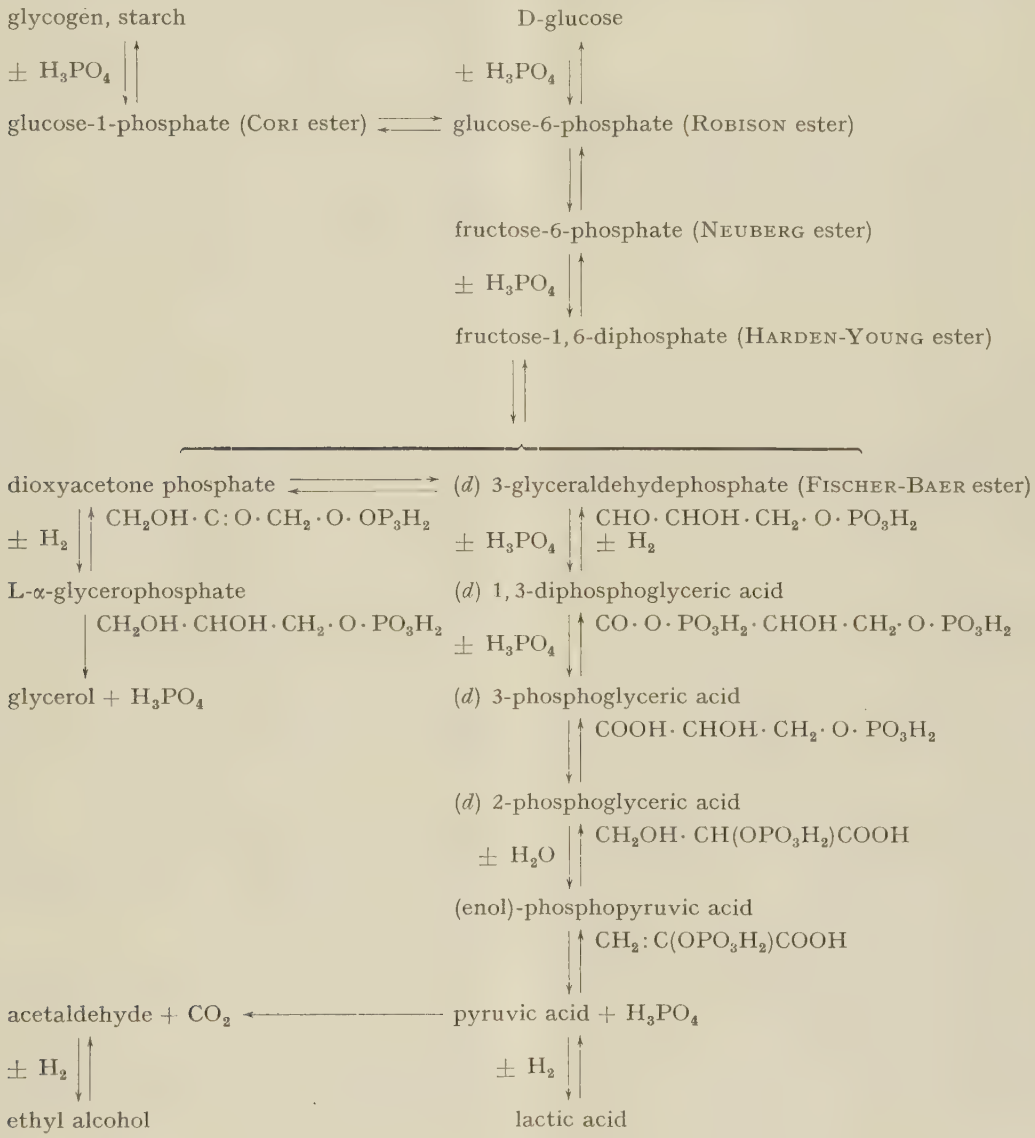
Several hexosemonophosphates other than those given in the scheme are synthesized and metabolized by the living cell. Mannose-6-phosphate is formed from

[1] O. Meyerhof, Naturwiss. *14*, 1175 (1926).
[2] H. A. Krebs, Advances in Enzymology *3*, 191 (1943).
[3] C. Neuberg and E. Reinfurth, Biochem. Z. *92*, 234 (1918).

[1] Former reviews: O. Meyerhof, Erg. Physiol. *39*, 10 (1937). — J. K. Parnas, Erg. Enzymforschung *6*, 57 (1937).
[2] O. Meyerhof, W. Kiessling, and W. Schulz, Biochem. Z. *292*, 25 (1937).
[3] K. Lohmann, Biochem. Z. *254*, 332 (1932); *262*, 152 (1933).
[4] O. Meyerhof and K. Lohmann, Biochem. Z. *271*, 89 (1934).

Scheme

Two changes are introduced into the scheme as given in my publications of 1941 and 1942[1]. 1,3-diphosphoglyceraldehyde, supposed to be an intermediary by O. Warburg and W. Christian[2], is left out, because no such substance is formed[3]. The reaction between phosphopyruvic acid and pyruvic acid + phosphate, which was supposed to be irreversible[4], was proved to be reversible[5] like all the other intermediary steps and is now designated by a double arrow.



mannose as glucose- and fructose-phosphates from the respective sugars[6]. Galactose-1-phosphate[7], the analogue of glucose-1-phosphate, is formed in the liver during the assimilation of galactose and is probably also an intermediary in yeast if the latter is adapted to the fermentation of galactose. Fructose-1-phosphate, another analogue of glucose-1-phosphate, was first obtained by splitting off one phosphate group from hexosediphosphate[1]. It was also obtained by enzymatic synthesis from *d*-glyceraldehyde and dioxyacetonephosphate. The enzyme responsible for this synthesis was called aldolase, because this is an aldol-condensation; moreover, the exact chemical nature of the reversible splitting and synthesis of hexosediphosphate to and from triosephosphates was proved in this way[2]. Quite recently it was shown that fructose-1-phosphate may be formed by enzymatic phosphorylation of fructose by means of ATP[3].

[1] O. Meyerhof, Biol. Symposia *5*, 143 (1941); Symposium on Respiratory Enzymes (Univ. of Wisconsin Press, Madison, 1942), p. 3.

[2] O. Warburg and W. Christian, Biochem. Z. *301*, 221 (1939); *303*, 40 (1939).

[3] O. Meyerhof and P. Oesper, J. Biol. Chem. *170*, 1 (1947).

[4] O. Meyerhof, P. Ohlmeyer, W. Gentner, and M. Meier-Leibnitz, Biochem. Z. *298*, 396 (1938).

[5] H. A. Lardy and J. A. Ziegler, J. Biol. Chem. *159*, 343 (1945). – O. Meyerhof and P. Oesper, Federation Proc. *7*, 174 (1948).

[6] C. M. Jephcott and R. Robison, Biochem. J. *28*, 1844 (1934).

[7] H. W. Kosterlitz, Biochem. J. *37*, 319 (1943).

[1] B. Tanko and R. Robison, Biochem. J. *29*, 961 (1935).

[2] O. Meyerhof, K. Lohmann, and P. Schuster, Biochem. Z. *286*, 301 (1936).

[3] G. T. Cori and M. W. Slein, Federation Proc. *6*, 246 (1947).

The last compound discovered in the scheme, 1,3-diphosphoglyceric acid (or phosphoglycerylphosphate) was found by Negelein and Brömel in 1939[1]. A similar compound, acetylphosphate,

$$\begin{array}{l} CH_3CO \\ | \\ OH_2PO_3 \end{array}$$

where the phosphate is likewise bound to a carboxyl group, was discovered by Lipmann in 1940[2]. It is formed by lactic acid bacteria in the oxidation of pyruvate and was synthesized in the laboratory. Similar acylphosphates are probably also formed from fatty acids and may play a role in the oxidation of fat[3].

II. *Phosphorylating mechanisms*

The special meaning of the phosphorylation of the intermediaries is revealed by their interaction with the coenzyme systems. The coferment of fermentation, discovered by Harden in 1900, consists actually of three different coenzymes (besides inorganic ions like Mg^{++}):

(1) the hydrogen transferring cozymase, chemically, diphosphopyridinenucleotide (DPN);

(2) the phosphorylating coenzyme or adenylic system containing the three stages adenosintriphosphate (or adenylpyrophosphate or ATP), adenosindiphosphate (ADP), and adenylic acid (or adenosinmonophosphate or AA);

(3) the cocarboxylase, diphosphothiamine.

We will concern ourselves mainly with the second system. Phosphate is taken up or received from the intermediaries by transphosphorylation with the adenylic system. With the help of radioactive inorganic phosphate it was shown definitely that this phosphate transfer occurred without intermediary liberation of inorganic phosphate[4]. Phosphorylation of glucose, therefore, in the presence of the specific enzyme "hexokinase", goes on according to the equation:

$$\text{glucose} + \text{ATP} \rightarrow \text{glucose-6-phosphate} + \text{ADP}$$

Dephosphorylation of phosphopyruvic acid, accordingly, obeys the equation:

$$\text{phosphopyruvic acid} + \text{ADP} \rightarrow \text{pyruvate} + \text{ATP}$$

Taking both equations together we have the phosphate transfer:

$$\text{phosphopyruvate} + \text{glucose} \xrightarrow{\text{ATP}} \text{pyruvate} + \text{glucose-6-phosphate.}$$

This transfer in the stationary state of glycolysis therefore goes on with minute amounts of ATP, which acts as a true catalyst in the presence of a specific transphosphorylase.

The phosphate bond in the adenylic system is "energy rich"; this fact is of primary importance. With the splitting of ordinary ester-phosphate linkages, 1,200 to 1,500 cal heat per mol are liberated; with the splitting of each single P group of the labile phosphate of ATP, 12,000 cal are liberated[1]. The free energy change is similar. In the phosphorylation process of glycolysis, phosphate is first taken up in an "energy poor" bond of the hexosephosphate, and by the transformation of the molecule, especially with the help of the oxidative step, it is changed into an energy rich bond. This high energy phosphate is transferred as such to the adenylic system and eventually to other substrates, which preserve the energy rich bond. The phosphorylating mechanism, therefore, serves for the generation and storage of energy rich phosphate bonds. How does the oxidative step of glycolysis generate such a bond? Glyceraldehyde-3-phosphate by itself does not react with inorganic phosphate. But if both are brought together with the purified oxidizing enzyme of O. Warburg and DPN, a reaction takes place in which DPN is reduced and 1,3-diphosphoglyceric acid originates[2]. Apparently a loose addition product forms between glyceraldehyde-phosphate and phosphate on the surface of the enzyme with the expenditure of an exceedingly small amount of energy[3]. But when by reaction with DPN the carbonyl group is oxidized to the carboxyl group the acylphosphate now has a bond with the free energy of nearly 15,000 cal. Thus the energy of oxidation of the aldehyde to carboxyl is captured in this phosphate group. By transphosphorylation with the adenylic system it is stored in ATP:

$$\text{1,3-diphosphoglyceric} + \text{ADP} \rightleftarrows \text{3-phosphoglyceric} + \text{ATP.}$$

In consequence of the internal rearrangement of 3-phosphoglyceric acid by way of 2-phosphoglyceric acid to enol-phosphopyruvate, a second energy-rich phosphate bond is created (enol-phosphate), which likewise transphosphorylates with ATP[4].

The free energy (ΔF), as distinct from the total energy or heat (ΔH), amounts to 11,000 cal for each of the labile P groups of ATP[5]. This available store of phosphate bond energy can be used either for biochemical synthesis or for the transformation into mechanical or electrical energy. Indeed, the new work of Szent-Györgyi gives us every reason to believe that ATP reacts directly with the contractile protein

[1] O. Warburg and W. Christian, Biochem. Z. *301*, 221 (1939); *303*, 40 (1939).

[2] F. Lipmann, J. Biol. Chem. *134*, 463 (1940).

[3] A. Lehninger, J. Biol. Chem. *161*, 432 (1945); *162*, 333 (1946). – H. J. Koepsell, M. J. Johnson, and J. S. Meek, J. Biol. Chem. *154*, 535 (1944).

[4] O. Meyerhof, P. Ohlmeyer, W. Gentner, and M. Meier-Leibnitz, Biochem. Z. *298*, 396 (1938).

[1] O. Meyerhof and K. Lohmann, Biochem. Z. *253*, 431 (1932).

[2] O. Warburg and W. Christian, Biochem. Z. *301*, 221 (1939); *303*, 40 (1939).

[3] O. Meyerhof and P. Oesper, J. Biol. Chem. *170*, 1 (1947).

[4] J. K. Parnas, P. Ostern, and T. Mann, Biochem. Z. *272*, 64 (1934).

[5] O. Meyerhof, Ann. New York Acad. Sci. *45*, 9, 377 (1944). – F. Lipmann, Advances in Enzymology *1*, 99 (1941).

of muscle ("actomyosin") and causes such modifications in its physical structure that it can contract or relax, depending on slight changes in concentration of K^+ and Mg^{++} ions[1].

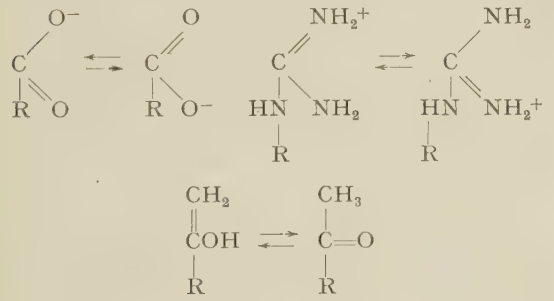
There exists another large store of high phosphate bond energy in those organs and cells which need this energy for transformation (by way of ATP) into mechanical or electrical energy. These cells are: voluntary muscle, heart, spermatozoa, the electric organs of electric fishes, and the central nervous system. All these cells and tissues are rich in phosphocreatine (vertebrates) or phosphoarginine (invertebrates). The phosphate bond energy is stored in these compounds without loss by means of the reversible reaction:

$$\text{ATP} + 2 \text{ creatine} \rightleftarrows \text{AA} + 2 \text{ phosphocreatine}.$$

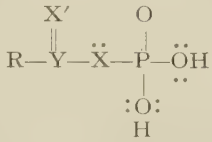
The same reaction applies to phosphoarginine.

The phosphate bond energy of ATP can also be used for endothermic (and endergonic[2]) syntheses, i.e., syntheses which need an outside source of free energy in order to occur. Especially interesting in this respect is the finding of VOGLER and UMBREIT that the energy of an inorganic chemical reaction, the oxidation of sulfur, serving as a source of energy for autotrophic Thiobacteria, *Thiobacillus thio-oxidans*, can be stored in the energy rich phosphate bond of ATP and used afterwards for the reduction of CO_2[3]. Less substantiated seems the hypothesis that a similar mechanism may be involved in the CO_2 assimilation of the green plants.

The question may be asked: what are the characteristics of an energy rich phosphate bond as distinguished from an ordinary ester bond? All the energy rich phosphates, such as acylphosphates, guanidinophosphates, enolphosphates, and pyrophosphates are formed with organic groups of high resonance. The resonance in such groups as carboxyl or guanidyl or enol (in equilibrium with keto) is produced by the oscillation of two valency electrons (or a hydrogen atom) between two otherwise identical configurations:

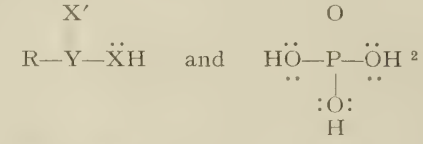


Moreover, because the phosphate molecule exhibits resonance between its different hydroxyl groups, the bridge of the ester linkage $-O-$ or $-N-$ is influenced by "opposing resonance" of the organic group and the phosphate group[1]. This makes such a structure unstable:



(X is O or N)

It leads to a great liberation of free energy when it is hydrolyzed to



If no endothermic syntheses occur, as for instance in the enzymatic extract of yeast, the labile phosphate of ATP, regenerated by the two steps of glycolysis already mentioned (the acylphosphate in 1,3-phosphoglyceric acid and the enolphosphate of phosphopyruvate) is transferred to new hexose molecules by the reactions:

$$\text{hexose} + \text{ATP} \rightarrow \text{hexosemonophosphate} + \text{ADP}$$

$$\text{hexosemonophosphate} + \text{ATP} \rightarrow \text{hexosediphosphate} + \text{ADP}$$

Every mol of HDP formed in this way gives rise to 2 mols of triosephosphate, each of which again produces 2 energy rich phosphate bonds, or together four. On the other hand, only two are needed to form hexosediphosphate. This leads to the autocatalytic increase of hexosediphosphate, or "HARDEN-YOUNG ester", in yeast extract, a reaction which was originally discovered (although misinterpreted) by HARDEN and YOUNG in 1905. In the living cell a very active ATP-ase counteracts this increase by decomposing the excess of ATP. But this enzyme is strongly bound to the structural elements of the cell and only present in traces in the enzymatic extracts[3, 4]. In the living cell phosphorylation and dephosphorylation are kept in step by the ATP-ase.

Another group-transferring enzymatic mechanism may be briefly described: the "transglucosidation", which is also involved in the remarkable reversible phosphorolysis of glycogen. CORI[5], who had discovered the splitting of glycogen to glucose-1-phosphate, showed later on that the reversal of this reaction (observed by KIESSLING[6] as well as by the school of CORI) does not start with completely pure (or crystallized) en-

[1] A. SZENT-GYÖRGYI, Muscular Contraction (Acad. Press, New York, 1947).

[2] C. D. CORYELL, Science *92*, 380 (1940).

[3] K. G. VOGLER and W. UMBREIT, J. Gen. Physiol. *26*, 157 (1942).

[1] M. KALCKAR, Chem. Rev. *28*, 72 (1941).

[2] For organic pyrophosphate a similar reasoning applies.

[3] O. MEYERHOF, J. Biol. Chem. *157*, 105 (1945).

[4] This is the origin of the somewhat puzzling "HARDEN-YOUNG equation", stating that for the fermentation of one mol of hexose a second mol of hexose is esterified to hexosediphosphate.

[5] C. F. CORI, G. T. CORI, and S. P. COLOWICK, J. Biol. Chem. *121*, 465 (1937).

[6] W. KIESSLING, Naturwiss. *27*, 129 (1939).

zyme, from the side of glucose-1-phosphate, unless some glycogen or soluble starch is already present as a "primer". The reaction, therefore, must be formulated[1]:

glucose-1-phosphate + glucosidic linkage $\rightleftarrows$ glucose-glucosidic linkage + phosphate

Because adenylic acid is a necessary part of this enzymatic mechanism (either firmly bound to the protein or as a dissociable coenzyme[2]) the uptake of phosphate occurs probably by way of intermediate phosphorylation of adenylic acid. On the other hand the main reaction here is not a transphosphorylation but a "transglucosidation". This was recently proved by a group of California workers[3]. E.g., in *Pseudomonas sacharophila*, an enzyme exists which catalyzes the reaction:

glucose-1-phosphate + fructose $\rightarrow$ glucosefructoside (sucrose) + phosphate.

Different ketoses and also aldopentoses can replace fructose, while a glucose-1-linkage (carbonyl bond) is always needed to synthesize a disaccharide. That the glucose unit is transferred in these cases, is neatly demonstrated when the phosphorylase is added to a solution of glucose-1-phosphate in the presence of inorganic phosphate, which contains radioactive P, but in the absence of any other sugar, which could act as "acceptor". Then a free exchange of radioactive P takes place between inorganic phosphate and glucose-1-phosphate without any glucose appearing. The reaction is[4]:

glucose-1-phosphate + enzyme $\rightarrow$ glucose--enzyme + phosphate.

The glucose-enzyme compound retains the free energy of about 2,000 cal of the carbonyl phosphate and can use it, if a ketose is added to it, for the formation of a disaccharide. Such a transglucosidation, moreover, can take place in the absence of bound and free phosphate, when a mixture of glucose-1-fructose (sucrose) and a second ketose is present. Here, reversible exchange reactions of the following type occur:

glucose-1-fructoside + sorbose $\rightleftarrows$ glucose-1-sorboside + fructose.

Still another type of enzymatic phosphorolysis, very similar to those described, was recently discovered by Kalckar[5]. Here ribose, the aldopentose which is a constituent of the nucleotides, takes the place of glucose in forming the carbonylphosphate, ribose-1-phosphate. This reaction may be formulated:

ribose-1-purine + phosphate $\rightleftarrows$ ribose-1-phosphate + purine.

The purine may be hypoxanthine or guanine. This phosphorolysis, which replaces the glucosidic bond with the imidazol nitrogen, is probably an important step in the metabolism of the nucleic acids.

III. *Studies of individual enzymes*

From the host of intermediary reactions, which are connected either with the transformation of the intermediaries themselves or with their interaction with the various coenzymes, many pure enzymes were isolated, and in some cases crystallized. Of these purified enzymes, I shall discuss three where especially interesting information was gained in the last years.

A. *Enolase*

It was found in the Heidelberg laboratory (Lohmann and Meyerhof, and Kiessling[1]) that enolphosphopyruvate was formed from 2-phosphoglyceric acid by an enzyme called enolase. This enzyme was also responsible for the inhibition of glycolysis by NaF. Although many dephosphorylating enzymes are also sensitive to fluoride, they need much higher concentrations for the same inhibition. In consequence, phosphoglyceric acid accumulates in glycolyzing enzyme extracts in the presence of NaF. By blocking the enolase, fluoride inhibition acts as a barrier behind which the last intermediary piles up because it cannot be further transformed. But this barrier remains tight only if enough inorganic phosphate is present; phosphate is therefore also a component of the inhibiting system[2]. This situation was further cleared up in 1941 by Warburg and Christian[3]. Enolase, obtained in pure form from the crystallized Hg salt, needed a bivalent cation for its action, preferentially Mg or Mn. If Mg is present (this must be regarded as the physiological cation of the reaction) and inorganic phosphate, a Mg—F-phosphate complex forms, which deprives the enzyme protein of its necessary Mg. This explains the fluoride inhibition. Probably the same explanation holds for the inhibition of ATP-ase by fluoride, since this enzyme likewise needs Mg. The fact that Mg is a necessary coenzyme factor of glycolysis and fermentation was already discovered in 1931 by Lohmann[4].

B. *Hexokinase*

Hexokinase, the enzyme necessary for initiating the turnover of glucose or fructose, was separated from yeast and partially purified in 1927[5]. In 1935 it was demonstrated that this initiating reaction was the

[1] C. F. Cori, G. T. Cori, and A. A. Green, J. Biol. Chem. *151*, 39 (1943); Federation Proc. *4*, 234 (1945).

[2] G. T. Cori and A. A. Green, J. Biol. Chem. *151*, 31 (1943). – G. T. Cori and C. F. Cori, J. Biol. Chem. *158*, 321 (1945).

[3] M. Doudoroff, J. Biol. Chem. *151*, 351 (1943).

[4] W. Z. Hassid, M. Doudoroff, and H. A. Baker, Arch. Biochem. *14*, 29 (1947).

[5] H. M. Kalckar, J. Biol. Chem. *167*, 477 (1947).

[1] K. Lohmann and O. Meyerhof, Biochem. Z. *273*, 60 (1934). – W. Kiessling, Chem. Ber. *68*, 597 (1935).

[2] O. Meyerhof and W. Schulz, Biochem. Z. *297*, 66 (1938).

[3] O. Warburg and W. Christian, Naturwiss. *29*, 589 (1941).

[4] K. Lohmann Biochem. Z. *237*, 445 (1931).

[5] O. Meyerhof, Biochem Z *183*, 176 (1927).

phosphorylation of the hexoses by ATP[1]. Kalckar proved in 1942 that the total reaction induced by hexokinase in a muscle extract:

2 glucose + ATP = 2 glucose-6-phosphate + AA (adenylic acid)

is the combined effect of two different enzymes[2]. Pure hexokinase is able to catalyze only the reaction:

glucose + ATP = glucosemonophosphate + ADP

A heat stable enzyme in muscle, called myokinase, completes the reaction by dismutating the ADP:

$$2\ \text{ADP} \rightleftarrows \text{ATP} + \text{AA}.$$

In this way ATP is formed anew and reacts again with a sugar molecule, if hexokinase is present, until practically all is finally transformed into adenylic acid.

Hexokinase was recently brought into the focus of interest on account of its specific sensitivity in the animal body. During the war the high sensitivity of this enzyme to vesicants, like mustard gas and similar substances, was discovered by English investigators[3]. Since the blistering effect on the skin was exactly parallel to the inhibition of the hexokinase in the skin, they assumed this enzyme to be the locus of attack of these poisons. Although this interpretation is not generally accepted, it stimulated the study of this enzyme and led to its crystallization from yeast.

The physiological importance of hexokinase was still more underscored by recent work in Cori's laboratory on the insulin effect[4]. The known antagonism in the living animal between the hyperglycemic principle in the anterior pituitary gland (Houssay factor) and the adrenal cortical hormone on the one side and insulin on the other, can be duplicated with purified hexokinase from muscle. The activity of purified hexokinase of an alloxan diabetic rat or from the normal rat treated with anterior pituitary hormone, is lower than from the controls and still more so if adrenal cortical extract is added to the hexokinase. This inhibition is relieved by insulin, which has no effect in the absence of the antagonists. This finding undoubtedly has an important bearing on the role of insulin in the normal and diabetic organism, even if this were not the only enzymatic mechanism influenced by insulin[5].

Finally, the different reactivity of glucose and fructose in biological systems is caused by their affinity to hexokinase. Whether we have to assume generally the presence of two hexokinases, glucokinase and fructokinase, is still not definitely known[6]. Independently of this problem a puzzling discrepancy was observed between glycolysis in the intact tissue, in tissue slices, in homogenates (disintegrated cells suspended in Ringer solution) and glycolysis in extracts free of structures[1]. In the first named types of tissue preparations from brain or malignant tumor glucose is much more quickly metabolized than fructose but the difference disappears in extracts from the same tissues; here, the total reactivity of both sugars is much greater and almost equal. The distinguishing factor is, as has recently been shown, the different concentration of ATP. The ATP splitting enzyme, the ATP-ase, is strongly adsorbed on the cell structures and so long as these are present, ATP is kept down by the activity of this enzyme. In this low range of ATP the affinity of fructose is much less than that of glucose, but in a higher range their affinity is equal. If these structures are removed, the same difference can be obtained in the extract with concentrations of added ATP much lower than those found by analysis in the living cell. Incidentally, it follows from these results that the *active* concentration of ATP in the living cell where the difference in the rates of fructose and glucose turnover is very conspicuous must be a small fraction of the total ATP found by analysis. The bulk of it is either separated by cell structures from the enzymes or otherwise bound to inert proteins.

C. *Carboxylase*

K. Lohmann showed in 1937 that cocarboxylase, separable from the enzyme carboxylase by washing yeast with slightly alkaline solutions, is nothing else but diphosphothiamine, the diphosphoric ester of vitamin B_1[2]. The carboxylase reaction of yeast:

$$\text{pyruvic acid} \rightarrow \text{acetaldehyde} + CO_2$$

does not occur in the animal. But the important observation of Peters[3], that in vitamin B_1 deficient animals pyruvate metabolism is inhibited and pyruvate concentration in the blood is strongly increased, proves that here also the breakdown of pyruvate needs cocarboxylase. The effectiveness of free thiamin in relieving the symptoms of B_1 deficiency in animals is easily explained by the reversible reaction[4]:

$$\text{thiamin} + 2\ \text{ATP} \rightleftarrows \text{thiaminediphosphate} + 2\ \text{ADP}.$$

The difference of the reaction of pyruvate in yeast and in the animal must be attributed to the specific enzyme proteins[5]. In the latter case the decarboxylation is always coupled with oxidation:

$$\text{pyruvate} + O = \text{acetate} + CO_2.$$

[1] O. Meyerhof, Naturwiss. *23*, 850 (1935).
[2] H. M. Kalckar, J. Biol. Chem. *148*, 127 (1943); *153*, 385 (1944).
[3] M. Dixon and D. M. Needham, Nature *158*, 432 (1946).
[4] W. H. Price, C. F. Cori, and S. P. Colowick, J. Biol. Chem. *160*, 633 (1945).
[5] S. P. Colowick, G. T. Cori, and M. W. Slein, J. Biol. Chem. *168*, 583 (1947).
[6] G. T. Cori and M. W. Slein, Federation Proc. *6*, 246 (1947).

[1] O. Meyerhof and N. Geliazkowa, Arch. Biochem. *12*, 405 (1947). – O. Meyerhof, Arch. Biochem. *13*, 485 (1947). – O. Meyerhof and J. R. Wilson, Arch. Biochem. *14*, 71 (1947).
[2] K. Lohmann and P. Schuster, Biochem. Z. *294*, 183 (1947).
[3] R. Passmore, R. A. Peters, and H. M. Sinclair, Biochem. J. *27*, 842 (1933). – R. A. Peters, Lancet *230*, 1161 (1936). – I. Banga, S. Ochoa, and R. A. Peters, Biochem. J. *33*, 1109 (1939).
[4] S. Ochoa, Biochem. J. *33*, 1262 (1939).
[5] D. E. Green, W. W. Westerfeld, R. Vennesland, and W. E. Knox, J. Biol. Chem. *140*, 683 (1941). – S. Ochoa, Evans' Biol. Action of Vitamins (Univ. of Chicago Press, 1942), p. 17.

F. Lipmann discovered[1] that as intermediate acetylphosphate was formed, the phosphate group was taken up from inorganic phosphate and attached to the carboxyl group in the same way as in 1,3-phosphoglyceric acid. Because this enzyme has not yet been obtained in pure state and flavine protein and possibly diphosphopyridinenucleotide are also components of the system, it cannot be stated definitely whether these oxidations are one step reactions or not. Even in the case where the final decomposition of pyruvate is achieved by the way of synthetic reactions involving the tricarboxylic acid cycle of Krebs, cocarboxylase is a necessary component of the system.

The characteristic feature which we have already encountered with the other coenzymes, the adenylic system and cozymase, is likewise true for cocarboxylase: viz. the exact specifities of the reactions are bound to the enzyme proteins while the coenzymes exhibit only a sort of class specifity, as H_2 transporting, phosphate transferring, or decarboxylating agents. This is also true for other coenzymes like riboflavin or pyridoxal, etc.

Conclusions

Carbohydrate metabolism furnishes some very striking examples of the biological function of vitamins and hormones. As is now more and more revealed by the studies of intermediary metabolism, vitamins must be generally regarded as constituents of the effective groups of enzymes or coenzymes. Nicotinamide, the pellagra vitamin, is the reacting group of the cozymase, thiamin of the cocarboxylase, and adenylic acid plays also some role as a sort of vitamin. Quite recently it was found by Lipmann and his group[2] that pantothenic acid (dihydroxydimethylbutyryl-β-alanide), another B-vitamin, is a constituent of the coenzyme of acetylation and acetate oxidation. In this way a great part of the acetic acid arising during the oxidation of carbohydrate and fat is disposed of.

Hormones on the other hand combine with enzymes, forming compounds of an increased or diminished activity, thereby controlling or regulating the speed of turnover of the metabolites. This is exemplified by the role of the cortical hormone and insulin on hexokinase.

It should therefore be acknowledged that the approach to intermediary metabolism described here, which tries to separate the global metabolic reaction into its constituting elements and to study the behavior and kinetics of the individual enzymatic steps, is not only of theoretical or academic interest but has yielded also results of great practical importance for general medicine, agriculture, and nutrition.

Résumé

Le schéma des étapes du dédoublement des glucosides dans la glycolyse des tissus animaux est exposé ici conformément aux résultats obtenus de 1932 à 1939. Toutes les substances intermédiaires sont phosphorylées. La transphosphorylation s'accomplit selon le système adénylique (acides adénosinetri-, di- et monophosphoriques). La grande énergie libre de ce groupe phosphorique n'est pas perdue, mais transmise aux intermédiaires de la glycolyse et s'accumule dans la phosphocréatine. Un autre type de phosphorylation est représenté par la phosphorolyse réversible du glycogène, avec formation du glucose-1-phosphate. Ce type est en réalité une «transglucosidation» comme on peut le démontrer dans la formation semblable du disaccharide à partir du glucose-1-phosphate et de la lévulose. En l'absence de la lévulose, le glucose-1-phosphate réagit avec l'enzyme en proportion stœchiométrique, et conserve l'énergie du groupe phosphorique dans la combinaison du glucose avec l'enzyme.

L'article traite des nombreuses réactions enzymatiques des enzymes purifiées et cristallisées et discute plus en détail la fonction des trois enzymes, soit: la transformation de l'acide 2-phosphoglycérique en phosphoénolpyruvique par l'énolase, la phosphorylation de la glucose par l'adénosinetriphosphate en présence de l'hexokinase, et le dédoublement de l'acide pyruvique par la carboxylase. Le rôle des vitamines comme groupes essentiels des coenzymes, et celui des hormones comme activateurs et inhibiteurs des enzymes sont mis en évidence dans les réactions métaboliques des glucosides.

[1] F. Lipmann, J. Biol. Chem. *134*, 463 (1940).

[2] F. Lipmann, N. O. Kaplan, G. D. Novelli, L. C. Tuttle, and B. M. Guirard, J. Biol. Chem. *167*, 869 (1947). – F. Lipmann and G. D. Novelli, Arch. Biochem. *14*, 23 (1947).

La biologie des hématinoprotéides oxygénables[1]

Par Marcel Florkin[2], Liège

On trouve dans toutes les cellules aérobies une série de biocatalyseurs de la famille des hématinoprotéides: les trois cytochromes, la peroxydase, la catalase. Souvent aussi, on y trouve la substance que Keilin appelle «unspecific cell hematin». Selon Stern et Melnick[3] les cellules aérobies contiennent un autre enzyme hématinoprotéidique, «l'enzyme de la réaction de Pasteur» qui catalyse l'action inhibitrice de l'oxygène sur la fermentation et la glycolyse.

Ces différentes substances fonctionnelles interviennent dans des processus biochimiques mettant primordialement en jeu la liaison chimique existant entre deux atomes d'oxygène, que ces atomes soient liés entre eux comme dans la molécule d'oxygène, ou

1 Conférence principale, présentée à la Société suisse de biologie médicale lors de la 127e Assemblée générale de la Société helvétique des sciences naturelles à Genève, le 31 août 1947.

[2] Laboratoires de biochimie de l'Université de Liège.

[3] K. G. Stern et J. L. Melnick, J. biol. Chem. *139*, 301 (1941).

qu'ils le soient sous la forme d'un pont peroxydique.

En dernière analyse, la fonction de ces biocatalyseurs relève de l'action catalytique de l'atome de fer qu'ils contiennent.

Si on considère par exemple le système cytochrome-cytochrome oxydase, on voit qu'il met en jeu l'oxygène d'une manière très fugace dans le métabolisme aérobie. Le rôle de l'oxygène est de faire passer à l'état ferrique le fer ferreux de la cytochrome oxydase. Ce fer ferrique en combinaison hématinoprotéidique amorce le transfert d'électrons qui se déroule sur la série des cytochromes. Parallèlement, l'enzyme de la réaction de Pasteur est aussi oxydé par l'oxygène moléculaire et le fer qu'il contient, de ferreux devient ferrique. Il agit alors sur le système enzymatique de la fermentation, vraisemblablement avec l'intervention d'une série d'hématinoprotéides. La fonction de l'oxygène dans les cellules aérobies consiste donc dans l'accomplissement du passage à l'état ferrique du fer de la cytochrome oxydase et de celui de l'enzyme de la réaction de Pasteur.

Il est généralement admis que cette oxydation débute par un stade d'oxygénation très fugace, préliminaire au changement de valence du fer. On trouve aussi chez les êtres vivants une substance fonctionnelle qui est, comme la catalase, comme la peroxydase et la cytochrome oxydase un dérivé hématinoprotéidique du protohème et qui est douée d'une propriété très remarquable: celle de s'oxygéner réversiblement, sans qu'il y ait oxydation du fer de la molécule. On peut en somme concevoir ce nouvel hématinoprotéide comme une substance acquise dans l'évolution à partir d'un catalyseur d'oxydation. Les propriétés nouvelles sont ici la protection contre l'oxydation, le premier stade seul de l'intervention de l'oxygène, ou oxygénation, subsistant, et la stabilisation de l'oxygénation. Ces propriétés que possèdent les hémoglobines (ou hématinoprotéides oxygénables dérivées du protohème) se retrouvent chez d'autres substances naturelles: les chlorocruorines, les hémocyanines et les hémérythrines. Les premières sont très voisines des hémoglobines et n'en diffèrent que par la possession d'un autre hème, le chlorocruorohème. Quant aux hémocyanines et aux hémérythrines, elles ne sont pas des hématinoprotéides. Elles ont cependant dans leur molécule, comme toutes les substances fonctionnelles intervenant dans les processus mettant en jeu l'oxygène, des atomes métalliques: cuivre pour l'hémocyanine et fer pour l'hémérythrine. Dans le langage de la biochimie comparée[1], on dira que les hémoglobines, les chlorocruorines, les hémocyanines et les hémérythrines sont analogues: leur propriété commune, celle de l'oxygénation réversible est en effet mise à profit à maintes reprises au cours de l'évolution animale dans une fonction physiologique déterminée: celle du transport de l'oxygène. On dira d'autre part que les hémoglobines, les chlorocruorines, les catalases, les peroxydases, les cytochrome oxydases, les cytochromes, les enzymes de la réaction de Pasteur sont homologues: quelle que soit la diversité de leurs rôles fonctionnels, elles sont en effet chimiquement parentes, étant toutes des hématinoprotéides.

Leurs degrés d'homologie diffèrent d'ailleurs.

Le présent exposé a pour sujet particulier l'étude des hématinoprotéides oxygénables: hémoglobines et chlorocruorines, et particulièrement leur rôle biologique en tant que transporteurs d'oxygène.

Les hémoglobines, ou hématinoprotéides oxygénables dérivées du protohème, ne sont pas l'apanage exclusif des animaux. On trouve en effet de l'hémoglobine chez un Protozoaire cilié, *Paramæcium* (SATO et TAMIYA[1]) et dans les nodules des racines de légumineuses (KUBO[2], KEILIN et WANG[3]).

Chez les animaux, on a maintes fois mis l'hémoglobine en évidence en dehors du sang[4]. On a, par exemple décelé l'hémoglobine dans le système nerveux de certains Vers, tels que l'Annélide *Aphrodita*, et d'une série de Némertiens: *Polia*, *Meckelia* et *Borlatia*.

Parmi les Insectes on trouve l'hémoglobine dans des tissus de Diptères et d'Hémiptères. Chez le Diptère *Gastrophilus intestinalis*, qui, au cours de sa période larvaire, est un parasite de l'estomac du cheval, la jeune larve est uniformément rouge par suite de la coloration, due à l'hémoglobine, du corps adipeux, des muscles pariétaux et de l'hypoderme. Dans la suite de la croissance de la larve, l'hémoglobine se localise dans des cellules spéciales, les cellules trachéennes, formant une masse rouge localisée au niveau du tiers postérieur du corps[5].

On trouve l'hémoglobine chez certains Hémiptères tels que *Buenoa margaritacea*[6] et *Anisops producta*[7] où elle est aussi localisée dans des masses composées de cellules trachéennes. En outre, chez un autre Hémiptère, *Macrocrixa geoffroyi*, on trouve de l'hémoglobine dans les glandes accessoires du système génital mâle[8].

Les muscles des Vertébrés contiennent de l'hémoglobine, à laquelle on donne souvent le nom de myoglobine et le pigment respiratoire peut aussi être mis en évidence dans les muscles pharyngiens d'une série de Mollusques gastéropodes (*Paludina*, *Littorina*, *Limnæa*, *Patella*, *Chiton*, *Aplysia*), comme aussi dans la paroi du corps de l'*Ascaris lumbricoides*[9].

La présence d'hémoglobine dans le sang est un caractère général des Vertébrés: elle est toujours chez eux contenue dans des hématies, nucléées ou anucléées.

[1] Voir M. FLORKIN, L'évolution biochimique (Masson, Paris, et Desoer, Liège, 1947, 2e éd.).

[1] T. SATO et H. TAMIYA, Cytologia (Fujii Jub. Vol.) 1133 (1937).

[2] H. KUBO, Acta phytoch. *11*, 195 (1939).

[3] D. KEILIN et Y. L. WANG, Nature *155*, 227 (1945).

[4] *Littérature*, voir: M. FLORKIN, Transporteurs d'oxygène (Hermann, Paris 1934).

[5] D. KEILIN et Y. L. WANG, Biochem. J. *40*, 855 (1946).

[6] H. B. HUNGERFORD, Canad. Entom. *54*, 262 (1922). – C. O. BARE, Kansas Univ. Sci. Bull. *18*, 265 (1928).

[7] R. POISSON, Arch. Zool. exp. et gén. *65*, 182 (1926).

[8] M. D. HAVILAND-BRINDLEY, Trans. Entom. Soc. London *77*, 5 (1929).

[9] D. KEILIN, Proc. Roy. Soc., London, Ser. *B*, *98*, 312 (1925).

La distribution de l'hémoglobine dans le sang des Invertébrés, où elle est, soit contenue dans des hématies, soit dissoute, défie toute systématisation. Passons en revue les différents groupes d'Invertébrés[1].

Chez les Echinodermes, on a chez une Ophiuroïde et chez de nombreuses Holothurioïdes mis en évidence, soit dans un des liquides organiques, soit dans deux ou soit dans les trois, des hématies à hémoglobine. On n'a jamais trouvé d'hématies chez des Stelleroïdes ou chez des Echinoïdes, ni chez des Holothurioïdes à test.

L'existence d'une hémoglobine dans le sang ou le liquide cœlomique des Vers annelés est connue depuis longtemps. Chez les Polychètes, il existe généralement un système circulatoire dans lequel on trouve un sang rouge, contenant de l'hémoglobine dissoute (*Arenicola, Eunice, Cirrhatulus, Nereis, Nais, Ophelia, Marphysa*, etc.). Le sang est cependant incolore chez les Phyllodociens, les Syllidiens et les Chétoptériens. Il n'existe pas de cas connu de la présence dans le sang d'une Annélide, d'un transporteur d'oxygène intracellulaire. Mais quand il existe de l'hémoglobine dans le liquide cœlomique d'une Annélide, le transporteur d'oxygène est toujours contenu dans des hématies. C'est le cas pour une série de Polychètes dépourvus de système circulatoire, tels que les Capitelliens, les Glycériens et le Térébellien *Polycirrus hematodes*. Chez d'autres Térébelliens comme *Travisia forbesii* ou *Terebella lapidaria*, il existe à la fois de l'hémoglobine dissoute dans le sang et de l'hémoglobine contenue dans des hématies cœlomiques. Parmi les Oligochètes, le sang contenu dans le système circulatoire est incolore chez les Enchytræides. Il contient de l'hémoglobine dissoute chez beaucoup d'autres Oligochètes: *Lumbricus, Tubifex, Limnodrilus, Lumbriculus*, etc. Quant aux Hirudinés, on trouve de l'hémoglobine dissoute dans le sang des Gnathobdellides (*Hirudo, Aulastoma, Nephelis*, etc.) tandis que le sang est incolore chez les Rhynchobdellides (*Pontobdella muricata, Branchiobdella astaci*, etc.).

Chez les Vers némertiens ou turbellariés, on trouve parfois dans le sang des hématies à hémoglobine (*Derostoma, Syndesmis, Drepanophorus, Polia*).

Les Echiuriens sont parfois considérés comme des Vers aberrants. Cependant, ils ne sont pas segmentés, ils ne portent qu'un petit nombre de soies disposées tout autrement que chez les Annélides et ils ont le corps divisé en deux parties, le lobe préoral rétractile et le corps proprement dit. On trouve dans la cavité cœlomique de beaucoup d'Echiuriens des hématies nucléés contenant de l'hémoglobine. Le liquide cœlomique des Echiuriens est d'ailleurs le seul liquide de leur milieu intérieur: ils sont dépourvus de système circulatoire.

Parmi les Mollusques, on trouve des hématies à hémoglobine dans le sang de nombreux Lamellibranches (appartenant aux genres *Pectunculus, Glycimeris, Cultellus, Arca, Gastrana, Tellina, Solen, Poromya, Capsa, Astarte*, etc.) et dans le liquide cœlomique de certains Amphineures, les Néoméniens. Chez un Gastéropode, *Planorbis*, le sang contient de l'hémoglobine dissoute.

Les Arthropodes ne sont que très exceptionnellement pourvus d'hémoglobine. Chez les Crustacés, beaucoup d'espèces qui sont de petite taille sont dépourvues de transporteur d'oxygène et d'autres ont de l'hémocyanine dans le sang. C'est seulement dans le groupe des Entomostracés (*Apus, Branchipus, Artemia, Daphnia, Chirocephalus, Lernanthropus, Clavella, Congericola*) qu'on trouve des sangs contenant de l'hémoglobine dissoute. Quant aux Insectes, qui ont recouru, pour l'apport de l'oxygène aux cellules, au transfert direct de l'air par les trachées, leur sang est dépourvu de transporteur d'oxygène, sauf une exception très remarquable, celle du sang des larves de certains Chironomides. La nature hémoglobinique du pigment rouge dissous dans le sang de la larve du Diptère *Chironomus*, communément appelée «ver de vase» a été démontrée par Rollet[1] dès 1861.

Sans doute les cellules sont-elles capables d'édifier des hématines. Elles contiennent toutes de nombreuses hématinoprotéides. Mais il apparaît qu'elles ne sont pas toutes capables de réaliser le mode particulier de combinaison d'un hème à une protéine qui présente les caractères assurant à la molécule résultante une protection contre l'oxydation et une stabilité de l'oxygénation, caractères au sujet desquels les récentes recherches de Pauling et de ses collaborateurs ont apporté de suggestives données. Qu'il dépende du pouvoir de synthétiser la globine ou qu'il dépende du pouvoir de combiner la globine à un hème selon les modes particuliers à une hématinoprotéide oxygénable, le pouvoir de synthétiser l'hémoglobine est certainement apparu maintes fois dans l'évolution comme l'attestent les curiosités que représentent dans le monde de leur groupe zoologique l'hémoglobine du chironome ou celle de la planorbe.

Mais il n'est pas douteux que le mécanisme de cette synthèse fait partie de la structure biochimique de certains groupes animaux, comme les Holothurioïdes parmi les Echinodermes, les Lamellibranches parmi les Mollusques, les Entomostracés parmi les Arthropodes. Elle est en outre répandue chez les représentants de groupes animaux plus étendus, comme les Vers et les Vertébrés.

La dénomination commune d'hémoglobine comporte, chez les molécules qui reçoivent cette dénomination, une série de caractères communs et entre autres:

celui d'être dérivées du protohème, caractère qui résulte du fait que les groupements prosthétiques des diverses hémoglobines fournissent, de l'avis général, le même hémochromogène lorsqu'ils sont combinés avec une substance basique azotée déterminée;

[1] *Littérature*, voir: M. Florkin, Transporteurs d'oxygène (Hermann, Paris 1934).

[1] A. Rollet, Unters. Z. Naturl. *8*, 531 (1861).

Tableau I
(Roche et Jean[1]; Roche et Mourgue[2])
Composition moyenne en acides aminés de différentes hémoglobines

Hémoglobine de	Trypto-phane %	Tyrosine %	Cystine %	Arginine %	Histidine %	Lysine %	Leucine %	Valine %	Alanine %
Lumbricus	4,41	3,47	1,41	10,07	4,68	1,73	—	—	—
Arenicola	1,64	2,52	4,08	10,04	4,03	1,85	9,68	6,69	—
Cheval	2,38	3,38	0,74	3,57	8,13	8,31	19,15	9,92	8,93

celui d'être de nature hétéroprotéidique, le protohème étant uni à une holoprotéine à laquelle on donne par définition le nom de globine;

celui de présenter un spectre caractéristique à deux bandes à l'état oxygéné, et à une bande à l'état réduit;

celui d'être oxygénables, c'est-à-dire de contracter une combinaison stable et réversible avec l'oxygène moléculaire;

celui de se combiner avec l'oxyde de carbone pour fournir la carboxyhémoglobine, dont le spectre visible présente deux bandes dont les positions diffèrent de celles de l'oxyhémoglobine correspondante;

celui d'être, en solution purifiée, et lorsqu'elles sont oxygénées, plus ou moins lentement transformées en méthémoglobine, composé à fer trivalent, qui n'est plus oxygénable et dont les solutions présentent dans le spectre visible, une bande dont la position diffère de celle de la bande de l'hémoglobine réduite.

L'homologie affirmée par le nom générique d'hémoglobine donné aux hématinoprotéides oxygénables à base de protohème n'est pas une homologie complète, comme le montre l'examen comparatif des propriétés des différentes hémoglobines.

Outre le fait que les cristaux d'hémoglobine diffèrent d'une espèce animale à l'autre, ce qui fut le sujet d'une vaste enquête de Reichert et Brown[3], la composition en acides aminés des différentes hémoglobines montre des différences nettes, comme l'indiquent les exemples réunis dans le tableau I.

Les belles recherches de Jean Roche et de son école ont bien mis en évidence le fait que l'hémoglobine des Vertébrés se distingue nettement des autres hémoglobines par le fait qu'elle contient moins d'arginine et de cystine et plus d'histidine, de lysine et de leucine.

Les positions des deux bandes α et β du spectre de l'oxyhémoglobine sont aussi différentes. Chez les Annélides, les deux bandes sont décalées vers le violet par rapport à leurs positions chez les Vertébrés. Au contraire, chez les Holothuries, les deux bandes sont décalées vers le rouge.

Les points isoélectriques des différentes hémoglobines présentent aussi des différences, comme le montre le tableau II.

Tableau II
Points isoélectriques des hémoglobines

Planorbis	4,77	Pedersen[1]
Thyone briareus .	5,80	Svedberg et Eriksson-Quensel[2]
Nereis virens . . .	5,10	Svedberg[3]
Arenicola marina .	4,76	Pedersen[1]
Aphrodite aculeata	5,70	Roche[4]
Glycera convoluta .	5,60	Roche[4]
Hæmopis sanguisuga	5,01	Svedberg[3]
Lumbricus terrestris	5,28	Svedberg[3]
Chironomus plumosus	5,40	Svedberg et Eriksson-Quensel[2]
Gastrophilus intest.	6,20	Keilin et Wang[5]
Homme	6,78	Ferry[6]
Cheval	6,78	Van Slyke et coll.[7]
Pigeon	7,23	Svedberg[3]

Comme on le voit, l'hémoglobine des Vertébrés a un point isoélectrique voisin de la neutralité et différant en cela de celui des hémoglobines des autres groupes, dont les points isoélectriques sont plus acides. Les hémoglobines diffèrent aussi par la valeur du poids moléculaire. Sans vouloir entrer dans le détail de la question, rappelons que les différentes hémoglobines ont des poids moléculaires qui sont approximativement des multiples d'un nombre voisin de 17000.

La valeur du multiplicateur varie d'une hémoglobine à une autre. Elle correspond à l'unité pour l'hémoglobine de la lamproie (Svedberg et Eriksson-Quensel[2]) et l'hémoglobine musculaire des Mammifères (Theorell[8]). Le multiplicateur est voisin de 2 dans le cas de l'hémoglobine de la larve de *Gastrophilus* (Adair, Ogston et Johnston[9]), de l'hémoglobine de la larve de *Chironomus* (Svedberg et Eriksson-

[1] J. Roche et G. Jean, Bull. Soc. Chim. biol. *16*, 769 (1934).
[2] J. Roche et M. Mourgue, Bull. Soc. Chim. biol. *23*, 1329 (1941).
[3] E. T. Reichert et A. P. Brown, The cristallography of hæmoglobin, Publ. No. 116 (Carnegie Inst., Washington, 1909).
[1] K. O. Pedersen, Koll. Z. *63*, 268 (1933).
[2] T. Svedberg et I. B. Eriksson-Quensel, J. Am. chem. Soc. *56*, 1700 (1934).
[3] T. Svedberg, J. biol. Chem. *103*, 311 (1933).
[4] J. Roche, Essai sur la Biochimie générale et comparée des pigments respiratoires (Masson, Paris s.d.).
[5] D. Keilin et Y. L. Wang, Biochem. J. *40*, 855 (1946).
[6] R. M. Ferry, J. biol. Chem. *57*, 819 (1923).
[7] D. D. Van Slyke, A. B. Hastings, M. Heidelberger et J. M. Neill, J. biol. Chem. *54*, 81 (1922).
[8] H. Theorell, Biochem. Z. *252*, 1 (1932).
[9] G. S. Adair, A. G. Ogston et J. P. Johnston, Biochem. J. *40*, 867 (1946).

Quensel[1]) et de l'hémoglobine du Lamellibranche *Arca* (Svedberg et Eriksson-Quensel[1]). Svedberg et ses coll.[2] ont montré qu'il existe une série d'autres valeurs, plus élevées, du multiplicateur: 4 pour l'hémoglobine des Vertébrés, 24 pour celle de la daphnie, 96 pour celle de la planorbe et 192 pour les hémoglobines du lombric et de l'arénicole.

Sans doute ces données sont-elles encore trop fragmentaires pour servir de base à un chapitre de biochimie comparée.

Quoi qu'il en soit, tous les résultats concourent à faire admettre que les Vertébrés ont, de manière générale, une hémoglobine sanguine qui est caractéristique de cette classe du règne animal. Elle diffère de toutes les autres hémoglobines étudiées jusqu'à présent par le fait qu'elle contient quatre atomes de fer.

Le pouvoir d'oxygénation reste le plus mystérieux des caractères de l'hémoglobine. L'étude approfondie des modifications intimes que les méthodes utilisées par Pauling ont permis de mettre en évidence au niveau de l'atome de fer au cours de l'oxygénation donnera peut-être accès au mécanisme du phénomène. En attendant il ne nous reste que la ressource de caractériser le comportement des différentes hémoglobines au cours de leur oxygénation par le graphique qui exprime le degré d'oxygénation en fonction de la pression partielle d'oxygène et qui est familièrement connue sous le nom de courbe de dissociation de l'oxyhémoglobine. Si on représente par T la portion de la molécule d'hémoglobine correspondant à un groupement oxygénable, c'est-à-dire à un atome de fer, l'équilibre sera représenté par

$$TO_2 \rightleftarrows T + O_2 \qquad (1)$$

et

$$\frac{[T\,O_2]}{[T_2]\cdot[O_2]} = K, \qquad (2)$$

K étant la constante d'équilibre d'oxygénation. La concentration de l'oxygène dans la solution, $[O_2]$, étant proportionnelle à la pression partielle de l'oxygène, conformément à la loi de Henry, on peut la remplacer dans l'équation (2) par cette pression p.

Si on représente par $[Hb\,O_2]$ la concentration de l'hémoglobine oxygénée et par $[Hb]$ la concentration de l'hémoglobine non oxygénée, l'équation devient

$$\frac{[HbO_2]}{[Hb]} = Kp, \qquad (3)$$

$$\log \frac{[HbO_2]}{[Hb]} = \log p + \log K. \qquad (4)$$

La forme logarithmique est particulièrement utile car si on porte en ordonnées les valeurs de $\log \frac{[HbO_2]}{[Hb]}$ et en abscisses les valeurs de $\log p$, on aura, K étant une constante, une ligne droite inclinée à 45° et coupant l'axe des ordonnées en un point correspondant à la valeur de $\log K$. Sous la forme habituelle, en portant en ordonnées les valeurs du pourcentage de saturation et en abscisses les pressions partielles d'oxygène, on obtiendra une hyperbole. C'est le cas pour l'hémoglobine musculaire des Mammifères et pour l'hémoglobine de la larve de *Gastrophilus*[2]. Mais ce n'est pas le cas pour les autres hémoglobines qu'on a jusqu'à présent étudiées (voir fig. 2). Dans le cas le plus général, la courbe de dissociation n'est pas une hyperbole, mais une courbe sigmoïde dont on peut empiriquement exprimer la forme par l'équation bien connue:

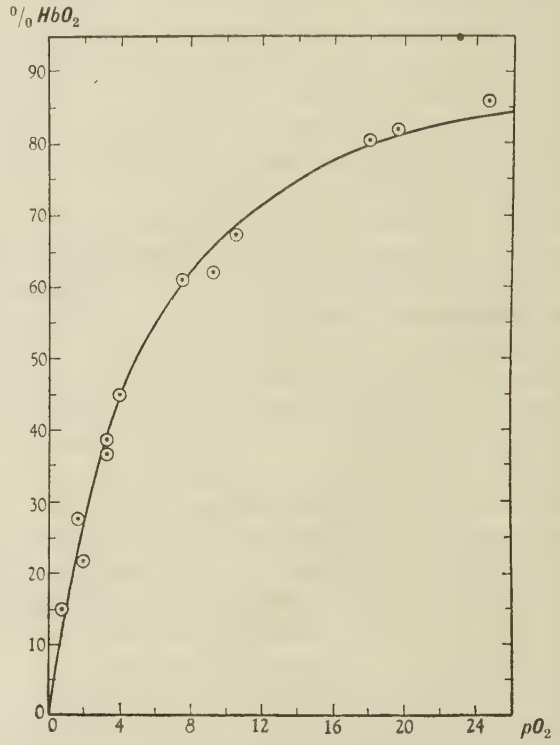


Fig. 1. (Keilin et Wang[1]) – Courbe de dissociation d'une solution concentrée ($1 \cdot 10^{-3}$ mol/g d'hématine par l) d'hémoglobine de *Gastrophilus*. Temp.: 39°.

$$\frac{[HbO_2]}{[Hb]} = K\,p^n$$

dans laquelle l'exposant représente, assez vaguement d'ailleurs, le degré d'interdépendance ou de diversité des différents groupes oxygénables. On admet en effet que dans les solutions d'hémoglobine musculaire des Vertébrés ou d'hémoglobine de *Gastrophilus*, il n'existe qu'une seule espèce de groupement oxygénable. L'hémoglobine musculaire ne contient qu'un atome de fer, et celle de la larve de *Gastrophilus* en contient deux, mais qui ont vraisemblablement des caractères identiques, tandis que dans les hémoglobines à courbe sigmoïde, ou bien les groupements oxygénables de la

[1] T. Svedberg et I. B. Eriksson-Quensel, J. Am. chem. Soc. *56*, 1700 (1934).

[2] Voir: T. Svedberg, Proc. Roy. Soc., L'don, Ser. B, *127*, 1 (1939).

[1] D. Keilin et Y. L. Wang, Biochem. J. *40*, 855 (1946), fig. 1.

[2] Voir: D. Keilin et Y. L. Wang, Biochem. J. *40*, 855 (1946), fig. 1.

même molécule ont des constantes d'oxygénation différentes, ou bien l'oxygénation de l'un d'entre eux modifie la constante d'oxygénation de ses voisins. D'une manière générale, les courbes de dissociation des hémoglobines de Vertébrés ont une forme sigmoïde, mais le degré de ce caractère varie d'une classe à l'autre

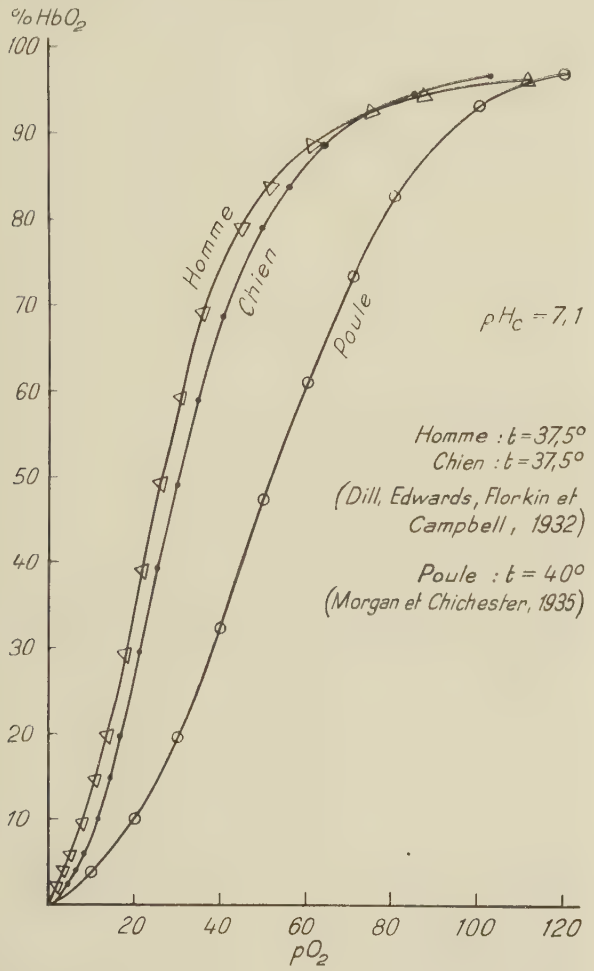


Fig. 2. (Morgan et Chichester[1]) – Courbes de dissociation des hémoglobines des sangs de l'homme[2], du chien[2] et de la poule[1].

selon un mode qui cadre avec la notion selon laquelle la courbe hyperbolique constitue un caractère primitif par rapport à la courbe sigmoïde. Chez les Poissons, en effet, les courbes de dissociation se distinguent de celles des autres sangs de Vertébrés en ce qu'elles ne sont que faiblement sigmoïdes, ou même presque hyperboliques, ou encore ondulées. Chez les Amphibiens, le même caractère s'observe chez les Urodèles, tandis que les Anoures ont des courbes nettement sigmoïdes, comme d'ailleurs les Reptiles, les Oiseaux et les Mammifères. Cette succession phylogénétique a une intéressante correspondante ontogénétique mise en évidence par McCutcheon[3] chez *Rana catesbiana* dont le têtard a une hémoglobine à courbe hyperbolique et l'adulte une hémoglobine à courbe sigmoïde.

On peut se faire une idée de l'affinité particulière d'une hémoglobine déterminée pour l'oxygène en repérant la position de sa courbe de dissociation par la valeur de p_{50}, c'est-à-dire de la pression partielle d'oxygène correspondant à un degré d'oxygénation de 50%.

Il faudra cependant comparer des valeurs de p_{50} obtenues dans des conditions comparables. Les variations de température et de p_H déplacent en effet la courbe de dissociation. La combinaison de l'oxygène moléculaire avec un transporteur étant un processus exothermique, une élévation de température diminuera l'affinité, et un abaissement de température l'augmentera. La fig. 3 illustre le déplacement de la courbe de dissociation de l'oxyhémoglobine de la raie *Raia ocellata*[1] en fonction de la température.

L'influence des variations de pression partielle d'anhydride carbonique (p_{CO_2}) sur l'affinité de l'oxygène pour l'hémoglobine a été découverte en 1904 par Bohr, Hasselbalch et Krogh, et elle porte le nom d'«effet Bohr». L'influence de la variation de p_{CO_2} est la conséquence d'une variation de p_H qui entraîne des modifications de dissociation de l'hémoglobine en tant qu'amphotère, modifications qui influencent les propriétés des groupements oxygénables. Quand la p_{CO_2} augmente dans une solution alcaline d'hémoglobine, le p_H se rapproche du point isoélectrique du transporteur et la dissociation de ses groupements acides diminue. L'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène diminue aussi et la valeur de p_{50} augmente, puisque la courbe de dissociation se déplace vers la droite. La fig. 4 illustre le phénomène dans le cas de l'hémoglobine de cheval. L'intensité de l'effet Bohr étant très variable, il faudrait, pour comparer les affinités pour l'oxygène des diverses hémoglobines, pouvoir disposer de courbes de dissociation obtenues dans des conditions comparables de p_H et de température. Ces conditions n'ont pas encore pu être réalisées de manière satisfaisante, car la variation de p_{CO_2} affecte le p_H du sang ou d'une solution d'hémoglobine de manières différentes, et la courbe de dissociation est dans chaque cas déplacée de manière particulière en fonction du p_H. La variation d'affinité en fonction de la température diffère aussi, pour les solutions d'hémoglobine, selon les conditions du milieu et selon la nature de l'hémoglobine. En attendant que des données plus précises soient mises à notre disposition, nous pouvons cependant arriver à des conclusions intéressantes en partant de certaines données de la littérature.

Parmi les hémoglobines connues, celle qui a la plus grande affinité pour l'oxygène est certainement celle du liquide périentérique d'*Ascaris lumbricoides*. Comme Keilin[2] l'a montré, l'ascaris possède deux hémoglo-

[1] V. E. Morgan et D. F. Chichester, J. biol. Chem. *110*, 285 (1935).

[2] D. B. Dill, H. T. Edwards, M. Florkin et R. W. Campbell, J. biol. Chem. *95*, 143 (1932).

[3] F. H. McCutcheon, J. cell. and comp. Physiol. *8*, 63 (1936).

[1] D. B. Dill, H. T. Edwards et M. Florkin, Biol. Bull. *62*, 23 (1932).

[2] D. Keilin, Proc. Roy. Soc., London, Ser. B, *98*, 312 (1925).

bines, l'une dans la paroi du corps et l'autre dans le liquide périentérique. Ces deux hémoglobines diffèrent l'une de l'autre par les caractères de leurs spectres d'absorption, tous deux différents, d'ailleurs, de celui de l'hémoglobine du porc. Dans une étude récente, Davenport[1] a mis en évidence la très forte affinité

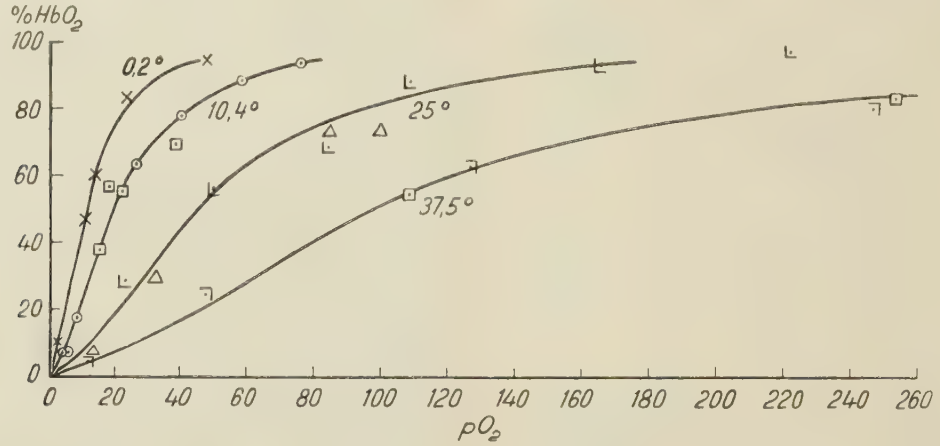


Fig. 3. (Dill, Edwards et Florkin[2]) – Courbes de dissociation de l'hémoglobine du sang de la raie *Raia ocellata* à différentes températures ($p_{CO_2} = 1 \pm 0{,}5$ mm Hg).

des hémoglobines d'*Ascaris* pour l'oxygène: l'hydrosulfite de sodium ne les réduit que très lentement, et une ébullition dans le vide à 20° ne les réduit pas complètement.

L'affinité pour l'oxygène de l'hémoglobine de la larve de *Gastrophilus* est moindre. A 39°, la p_{50} d'une solution concentrée contenant $1 \cdot 10^{-3}$ atome/g de Fe par litre correspond à 4,9 mm, tandis que la p_{50} d'une solution diluée contenant $0{,}84 \cdot 10^{-4}$ atome/g de Fe

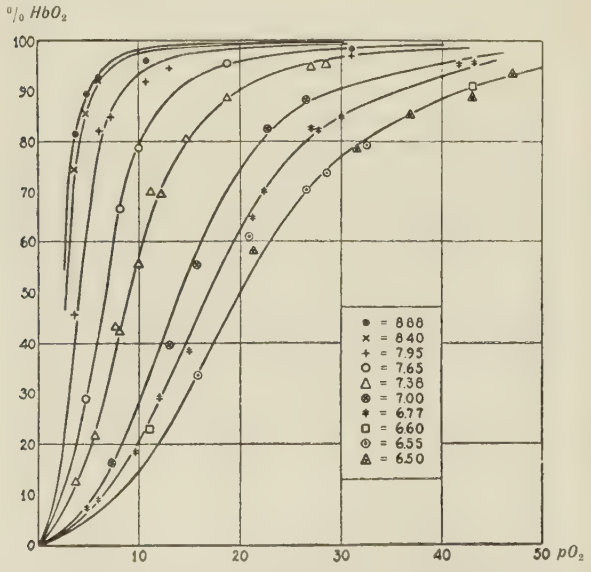


Fig. 4. (Ferry et Green[3]) – Influence des variations de p_H sur la courbe de dissociation de l'hémoglobine du sang de cheval.

[1] H. E. Davenport, Nature *155*, 516 (1945).
[2] D. B. Dill, H. T. Edwards et M. Florkin, Biol. Bull. *62*, 23 (1932).
[3] R. M. Ferry et A. A. Green, J. biol. Chem. *81*, 175 (1929).

par litre est de 0,02 mm Hg. La nouvelle complication rencontrée ici, et qui est la variation d'affinité avec le degré de dilution de l'hémoglobine s'observe aussi pour différentes hémoglobines de Mammifères[1].

Fox[2] a comparé les valeurs de p_{50}, à 10° et à 17° et en l'absence de CO_2, pour les sangs non dilués de la larve de *Chironomus*, de l'arénicole et de la planorbe, et pour les sangs à peine dilués de *Tubifex*, de *Daphnia* et de *Ceriodaphnia*. Il a obtenu les résultats réunis dans le tableau III:

Tableau III

	p_{50}	
	10°	17°
Chironomus riparius	0,5	0,6
Tubifex sp.	0,5	0,6
Ceriodaphnia laticaudata . . .	—	0,8
Arenicola marina	1,5	1,8
Planorbis corneus	1,5	1,9
Daphnia magna	2,0	3,1

Les hémoglobines du chironome et de *Tubifex* ont, dans cette série, l'affinité la plus forte et celle de la daphnie l'affinité la plus faible. On peut comparer les valeurs de la deuxième colonne du tableau avec la valeur de p_{50} qui est de 27 mm[1] pour le sang humain à sa concentration normale en hémoglobine, à la température de 20° et au p_H 7,4. On voit donc que l'affinité de l'hémoglobine des Invertébrés pour l'oxygène apparaît comme nettement plus forte que celle de l'hémoglobine humaine.

McCutcheon et Hall[3], Hall et McCutcheon[4] et

[1] R. Hill et H. P. Wolvekamp, Proc. Roy. Soc., London, Ser. B, *120*, 484 (1936).
[2] H. M. Fox, J. exp. Biol. *21*, 161 (1945).
[3] F. H. McCutcheon et F. G. Hall, J. cell. and comp. Physiol. *9*, 191 (1937).
[4] F. G. Hall et F. H. McCutcheon, J. cell. and comp. Physiol. *11*, 205 (1938).

McCutcheon[1] ont comparé les valeurs de p_{50} correspondant à des solutions diluées d'hémoglobine dans des solutions-tampons de phosphates de p_H défini, à une température définie, et leurs résultats montrent que l'affinité pour l'oxygène est moindre pour les hémoglobines des animaux à respiration terrestre que pour celles des animaux aquatiques et que d'autre part elle est aussi moindre chez les espèces très actives que chez les peu actives. Le même procédé permet de montrer que chez les espèces à respiration aérienne, l'affinité est plus grande dans la vie embryonnaire que chez l'adulte: c'est le cas chez la chèvre[2], chez le poulet[3], chez la grenouille *Rana catesbiana*[4] et chez la tortue *Malaclemys centrata*[1].

L'ensemble des données acquises est en faveur de la notion selon laquelle les hémoglobines à affinité faible pour l'oxygène sont des transporteurs plus évolués que les hémoglobines à affinité forte.

Les différents hémoglobines diffèrent aussi sous le rapport des variations d'affinité pour l'oxygène en fonction du p_H (effet Bohr). Certaines hémoglobines ne présentent pas d'effet Bohr: telles sont l'hémoglobine d'*Urechis*[5], celle de la larve de *Chironomus*[6] et l'hémoglobine musculaire des Vertébrés[7]. Pour les hémoglobines d'autres Invertébrés que ceux qui viennent d'être cités, l'effet est très faible (*Ceriodaphnia laticaudata, Thalassema neptuni, Arenicola marina, Planorbis corneus, Daphnia magna,* Fox[6], *Arenicola marina,* Wolvekamp et Vreede[8]). Il existe à des degrés plus ou moins marqués chez les différentes classes de Vertébrés et joue chez eux un rôle important que nous aurons à considérer. Dans l'ensemble, l'acquisition de l'effet Bohr apparaît comme un fait d'évolution de l'hémoglobine. Son intensité, de même que l'affinité particulière de l'hémoglobine pour l'oxygène, et la forme de la courbe de dissociation de l'oxyhémoglobine, apparaît comme un caractère spécifique de chaque transporteur, intégré dans le mécanisme respiratoire de l'animal qui le possède.

Les hémoglobines diffèrent encore l'une de l'autre par d'autres caractères. Si pour chaque hémoglobine on mesure en unités Å l'espace (*span*) qui sépare, dans le spectre d'absorption, la position de la bande α de l'oxyhémoglobine de celle de la bande α de la carboxyhémoglobine, on observe des différences nettes.

D'autre part, l'autoxydation des hémoglobines en méthémoglobine qui est très lente dans le cas des hémoglobines de Vertébrés est beaucoup plus rapide dans le cas de l'hémoglobine de *Gastrophilus*, de l'hémoglobine musculaire des Mammifères ou de l'hémoglobine des nodules de racines des Légumineuses.

Keilin et Wang[1], qui attirent l'attention sur ces différences dans leur beau mémoire sur l'oxyhémoglobine de *Gastrophilus* font remarquer que ce caractère, associé au fait que les trois hémoglobines en question ont aussi une très forte affinité pour l'oxygène, une faible affinité pour l'oxyde de carbone, une faible valeur[2] du coefficient K de l'équation $\frac{[HbCO]\, p_{CO_2}}{[HbO_2]\, p_{CO_2}} = K$ et une localisation intracellulaire étrangère au milieu intérieur, en fait en quelque sorte des intermédiaires entre certains catalyseurs d'oxydation et les transporteurs d'oxygène les moins autoxydables.

Le rapide tableau que nous avons brossé de la biochimie comparée des hémoglobines aura montré qu'elles constituent un domaine dans lequel s'affirment à l'échelle moléculaire les différences systématiques qui distinguent les groupes animaux. Les hémoglobines des Vertébrés, jusqu'à présent les mieux étudiées, présentent des différences d'une espèce à l'autre et même, à ce qu'il semble, d'un individu à l'autre. On peut cependant, à certains caractères biochimiques, distinguer une hémoglobine de Vertébré des autres hémoglobines, en particulier par le fait qu'elle a un poids moléculaire voisin de 68000, caractère qui apparaît comme aussi typique des Vertébrés que les caractères morphologiques que les systématiciens leur attribuent en propre.

Typiquement, la fonction respiratoire d'un milieu intérieur s'accomplit au cours d'un cycle au cours duquel ce milieu intérieur circule au sein de l'organisme depuis le lieu de sa mise en équilibre avec le milieu extérieur, ou avec un prolongement de ce dernier pénétrant au sein de l'organisme, jusqu'aux cellules des différents tissus.

Au niveau de la frontière du milieu extérieur, le sang se charge d'oxygène et abandonne de l'anhydride carbonique. Au niveau des tissus, il abandonne de l'oxygène et se charge d'anhydride carbonique. Ce cycle respiratoire typique implique l'intervention d'un système physico-chimique qui assure le transport de l'oxygène dans une direction et le transport de l'anhydride carbonique dans l'autre.

Les propriétés de l'hémoglobine mises en jeu dans son intervention au cours du fonctionnement du système transporteur sont multiples. Elle est oxygénable et son degré d'oxygénation varie en fonction de la pression partielle d'oxygène. Etant une hétéroprotéide, elle porte des groupements acides qui peuvent se combiner avec des bases, la dissociation de ces groupements acides étant fonction de la réaction du milieu et la

[1] F. H. McCutcheon, J. cell. and comp. Physiol. *29*, 333 (1947).
[2] E. F. McCarthy, J. Physiol. *80*, 206 (1933). – F. G. Hall, J. Physiol. *82*, 33 (1934).
[3] F. G. Hall, J. Physiol. *83*, 222 (1934).
[4] F. H. McCutcheon, J. cell. and comp. Physiol. *8*, 63 (1936).
[5] A. C. Redfield et M. Florkin, Biol. Bull. *61*, 185 (1931).
[6] H. M. Fox, J. exp. Biol. *21* ,161 (1945).
[7] R. Hill, Proc. Roy. Soc., London, Ser. B, *120*, 472 (1936).
[8] H. P. Wolvekamp et M. C. Vrede, Arch. néerl. Physiol. *25*, 265 (1940/41).

[1] D. Keilin et Y. L. Wang, Biochem. J. *40*, 855 (1946).
[2] Les valeurs de K sont respectivement les suivantes pour une série de transporteurs et de biocatalyseurs: Hb de Vertébrés: 120–550; Hb musc. de rat: 28–51; Hb des légumineuses: 37; Hb de *Gastrophilus:* 0,67; Phénoloxydase: 0,25–1,00; Cytochrome oxydase: 0,1. – D. Keilin et Y. L. Wang, Biochem. J. *40*, 855 (1946).

molécule abandonnant des cations lorsque le p_H se rapproche du point isoélectrique. La dissociation ne varie pas seulement avec la réaction mais aussi avec le degré d'oxygénation et, inversement, le degré d'oxygénation pour une pression partielle d'oxygène donnée varie avec la dissociation des groupements acides voisins des groupements oxygénables. D'autre part, la molécule du transporteur contient des groupements NH_2 libres et ces derniers peuvent contracter avec l'acide carbonique des combinaisons du type carbamate.

Tels sont les caractères qui font de l'hémoglobine une substance fonctionnelle particulièrement intéressante. Il importe de rendre tangibles, par des exemples concrets, ces caractères importants, avant de montrer quel parti a pu en être tiré au cours de l'évolution de la fonction respiratoire du milieu intérieur, et tout d'abord dans le transport de l'oxygène.

Si on représente graphiquement l'absorption de l'oxygène combiné en fonction de la pression partielle de ce gaz, pour différents sangs ou liquides cœlomiques pourvus d'un transporteur d'oxygène, les conditions en ce qui concerne la température et la pression partielle d'anhydride carbonique étant celles qui existent dans le sang artériel, on obtient un graphique comme celui

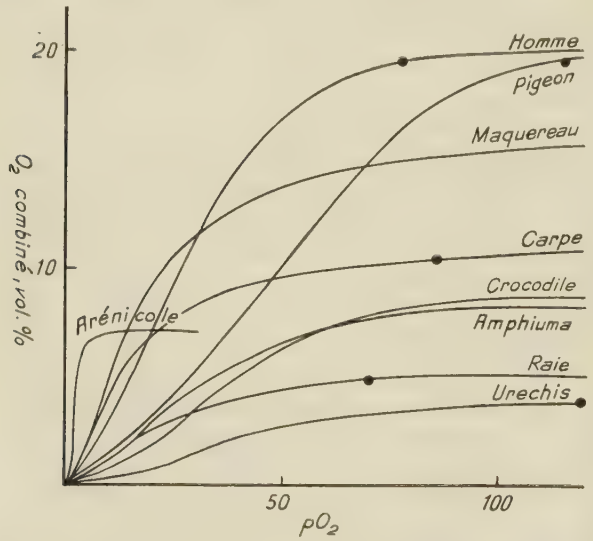


Fig. 5. (Florkin[1]) – Courbes d'absorption de l'oxygène par différents sangs et liquides cœlomiques contenant de l'hémoglobine, dans les conditions «artérielles» reproduites approximativement *in vitro*. Les points noirs repèrent les valeurs de la p_{O_2} artérielle.

de la fig. 5. Ces courbes sont très différentes, mais une des causes de cette variété est le fait que le nombre de groupements oxygénables varie d'un milieu intérieur à l'autre. Le pouvoir oxyphorique, c'est-à-dire la quantité d'oxygène exprimée en volumes pour cent correspondant à la saturation du transporteur commande en effet le niveau auquel la courbe devient horizontale. Pour comparer utilement les différentes courbes, il faut considérer dans chaque cas, pour les différentes pressions partielles, non plus la quantité d'oxygène combinée au transporteur, mais le degré de saturation de ce dernier. On voit alors, comme dans la fig. 6 se distribuer dans le graphique une famille de courbes dont on peut repérer la position en notant la valeur de la pression partielle d'oxygène correspondant à un degré de saturation de 50% (p_{50}). La position et la forme des courbes de la fig. 6 correspondent dans chaque cas à la tem-

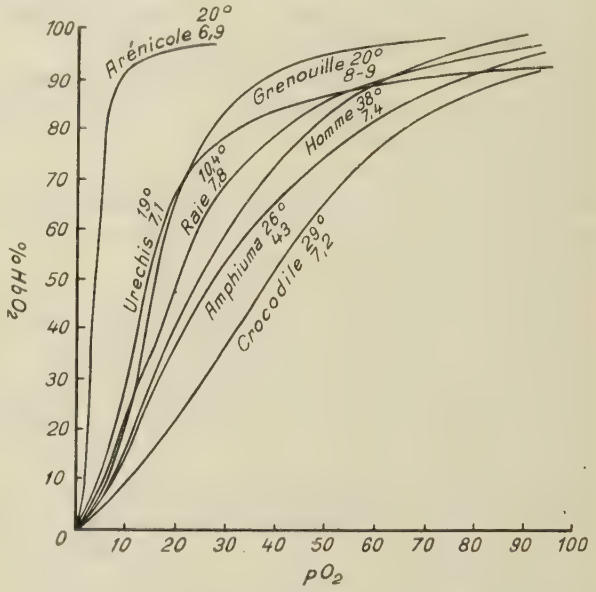


Fig. 6. (Florkin[1]) – Courbes d'absorption de l'oxygène par différents milieux intérieurs contenant de l'hémoglobine. On a indiqué dans chaque cas la température et la pression partielle d'anhydride carbonique (dans les cas de la grenouille et d'*Amphiuma*) ou le p_H (dans les autres cas).

pérature et à la pression partielle de CO_2 régnant au lieu de l'artérialisation du sang. La température est de 10° dans le cas de la raie et de 38° dans celui de l'homme.

La pression partielle de CO_2 est de 8 mm dans le cas de la grenouille et de 43 mm dans le cas de l'Urodèle *Amphiuma*.

Si nous avions tracé toutes les courbes à la même p_{CO_2} et à la même température, les valeurs des p_{50} n'auraient pas été celles du graphique de la fig. 6. Telles qu'elles sont et telles qu'elles correspondent aux conditions physiologiques de l'oxygénation leur position et leur forme est la résultante de nombreux facteurs tels que la p_{CO_2} et la température du sang arté-

Tableau IV[1]

	Raia ocellata	*Chelydra serpentina*	Canard	Oie	Homme
O_2 total transporté, vol. %	3,92	3,70	10,0	5,14	5,30
O_2 transporté sous forme dissoute, vol. %	0,22	0,17	0,15	0,17	0,10

[1] M. Florkin, Ann. Physiol. *10*, 599 (1934).

[1] M. Florkin, Ann. Physiol. *10*, 599 (1934).

Tableau V[1]

$p_{O_2} = \pm 150$ (dans l'eau en équilibre avec l'air, ou dans l'air)

	Sipunculus nudus	*Urechis caupo*	*Busycon canalicul.*	*Loligo pealei*	*Raia ocellata*	*Chelydra serpentina*	Canard	Oie	Homme	Cheval
Transporteur .	*Hr*	*Hb*	*Hcy*	*Hcy*	*Hb*	*Hb*	*Hb*	*Hb*	*Hb*	*Hb*
p_{O_2} artérielle .	32	75	36	115	70	57	102	94	100	78
% sat. sg. artériel	90	97	95	97	93	95	98	96	98	96

riel, l'affinité particulière de l'hémoglobine pour l'oxygène, l'intensité de l'effet Bohr, etc. Telles qu'elles sont, elles représentent une composante de l'ensemble du mécanisme respiratoire de l'animal considéré et elles s'intègrent comme telles dans le complexe de ce mécanisme respiratoire particulier à l'organisme, dans son milieu normal.

Le sang de tous les Vertébrés contenant des hématies à hémoglobine, et ces animaux ayant tous un cycle respiratoire bien défini, ils nous serviront utilement de point de départ pour l'étude du rôle de l'hémoglobine dans le transport de l'oxygène par le sang.

Le caractère essentiel de l'intervention de l'hémoglobine dans le transport de l'oxygène chez les Vertébrés est nettement mis en évidence par les valeurs obtenues lors de l'étude du cycle respiratoire, en ce qui concerne l'«oxygène transporté» c'est-à-dire la différence des teneurs en oxygène total du sang artériel et du sang veineux d'une part, et la différence des teneurs des mêmes sangs en oxygène dissous.

L'intervention, dans le transport de l'oxygène, du caractère sigmoïde de la courbe de dissociation, est évident. Dans les conditions de pressions partielles d'oxygène qui règnent dans le sang artériel et dans le sang veineux, une courbe hyperbolique ne permettrait de transporter qu'une quantité d'oxygène beaucoup plus faible. Lorsque la réduction du sang s'accompagne d'acidification, l'effet Bohr intervient aussi puisque la courbe est déplacée vers la droite, ce qui, à p_{O_2} égale entraîne un moindre degré d'oxygénation de l'hémoglobine.

La courbe de dissociation, telle qu'elle existe dans les conditions artérielles et dans les conditions veineuses présente-t-elle des caractères qui peuvent être mis en parallèle avec des caractères physiologiques ou écologiques de l'animal?

Si nous examinons, quel que soit le transporteur d'oxygène que contient leur sang, les quelques espèces animales dont le cycle respiratoire du sang est connu, et si nous notons les valeurs de la p_{O_2} artérielle et du degré de saturation du sang artériel, nous constaterons qu'il existe d'un cas à l'autre, même pour des animaux vivant dans le même milieu, des gradients très divers de pressions d'oxygène, contrairement à ce qui se passe pour le CO_2 qui est toujours, à peu de chose près, dans le sang artériel, en équilibre avec le milieu (Florkin[1]). Et cependant, quelle que soit la p_{O_2} résultant des caractères de l'appareil circulatoire, le sang artériel présente un degré de saturation de 90 à 98%. En d'autres termes, dans les exemples connus, quelle que soit la différence entre p_{O_2} extérieure et p_{O_2} artérielle, le point coordonnant, sur la courbe de dissociation, la p_{O_2} artérielle avec le degré de dissociation tombe toujours à l'extrémité supérieure de la portion ascendante du graphique de combinaison de l'oxygène avec son transporteur.

La forme et la position de la courbe de dissociation sont donc adaptées à la physiologie respiratoire de l'organisme, puisque la plus légère diminution de p_{O_2} entraîne aussitôt un abandon d'oxygène par l'hémoglobine. La fait, mis en évidence dans le tableau V, qu'il n'est pas justifié de considérer, même chez les animaux aquatiques, que la p_{O_2} artérielle est égale à la p_{O_2} extérieure est encore attesté par les observations de Fox[2].

En dépit de notre peu de connaissances quant à leur cycle respiratoire, il est possible d'établir, en ce qui concerne les Poissons, une relation entre le caractère plus ou moins vertical de leur courbe de dissociation et la teneur du milieu extérieur en oxygène. Proposée dès 1919 par Krogh et Leitch[3] cette relation a reçu depuis de nombreuses confirmations. Comme ces auteurs l'ont fait remarquer, une forte affinité pour l'oxygène permet à un Poisson vivant dans de l'eau mal oxygénée de charger son sang en oxygène plus facilement que ne le ferait un Poisson possédant une hémoglobine à basse affinité. D'autre part, une forte affinité, encore accentuée par une basse température, maintiendra la courbe dans la région gauche du graphique, c'est-à-dire vers les basses pressions et l'oxygène sera par conséquent livré à faible pression aux tissus, sauf si l'intervention d'un effet Bohr efficace déplace la courbe vers la droite. Plusieurs expérimentateurs[4] ont confirmé que l'effet Bohr est, chez les Poissons d'eau douce, plus marqué chez ceux qui habitent les eaux

[1] M. Florkin, Ann. Physiol. *10*, 599 (1934).

[1] M. Florkin, Ann. Physiol. *10*, 599 (1934).

[2] H. M. Fox, J. exp. Biol. *21*, 161 (1945).

[3] A. Krogh et I. Leitch, J. Physiol. *52*, 288 (1919).

[4] E. N. Willmer, J. exp. Biol. *11*, 283 (1934). – F. E. J. Fry et E. C. Black, Anat. Rec. *72* (suppl.), 47 (1938). – F. E. J. Fry, Am. Assoc. Adv. Sci. publ. no. 10, 132 (1939). – E. C. Black, Biol. Bull. *79*, 215 (1940). – L. Irving, E. C. Black et V. Safford, Biol. Bull. *80*, 1 (1941). – J. K. W. Ferguson et E. C. Black, Biol. Bull. *80*, 139 (1941).

profondes et froides et que les sangs des mêmes poissons présentent aussi une moindre affinité pour l'oxygène, à de faibles p_{CO_2}. Ces deux caractéristiques, faible affinité et effet Bohr relativement fort, contrebalancent les propriétés imposées au sang par la basse température. Différentes observations montrent l'intervention plus ou moins marquée de l'«effet de pompe» exercé par l'effet Bohr, chez les Poissons d'eaux profondes, dans la libération d'oxygène au niveau de la vessie natatoire[1]. Mais si l'effet Bohr est plus marqué chez les Téléostéens d'eau douce que chez les Mammifères, il est encore bien plus prononcé chez les Téléostéens marins (Root[2]) ce qui cadre avec une propriété caractéristique des Téléostéens marins, celle d'avoir une p_{CO_2} artérielle basse, correspondant à celle de l'eau de mer. Ici l'effet Bohr apparaît comme une efficace correction du caractère presque hyperbolique de la courbe de dissociation, sans que cette correction soit, comme elle le serait dans un milieu riche en CO_2, payée par une diminution des mécanismes de charge. L'effet Bohr des Poissons offre beaucoup d'autres particularités intéressantes. Il présente des caractères différents dans le sang total et dans le sang hémolysé, et il faut ajouter à ce dernier, pour obtenir le même effet, des quantités de CO_2 beaucoup plus élevées, ce qui indique, soit qu'il règne dans les hématies de poissons un p_H notablement plus acide que celui du plasma (Root et Irving[3]), soit que l'hémolyse produise une modification de constante de dissociation acide, conformément à une hypothèse proposée par Alfred Redfield.

Un autre exemple de relation entre l'affinité pour l'oxygène de l'hémoglobine du sang artériel et la teneur en oxygène du milieu est fourni par les Mammifères vivant à de hautes altitudes, tels que le lama (*Lama huanachus*), le vicuna (*Lama vicugna*) et le viscacha (*Lagostoma* sp.) dont les hémoglobines ont une affinité plus élevée pour l'oxygène que celles des autres Mammifères (Hall, Dill et Barron[4]).

Le rôle de l'hémoglobine dans le transport de l'oxygène au cours du cycle respiratoire est bien moins connu encore chez les Invertébrés que chez les Vertébrés. Nous n'avons en effet à notre disposition aucune donnée quantitative quant aux caractères du sang artériel ou du sang veineux d'un Invertébré pourvu d'une circulation et d'un sang à hémoglobine. Les conditions de la mise en jeu d'une hémoglobine comme transporteur au cours d'un cycle respiratoire sont les suivantes: il faut que la pression partielle de l'oxygène soit plus basse au niveau des tissus qu'au niveau de l'organe de l'hématose, et il faut que la pression partielle d'oxygène régnant au niveau des tissus soit plus faible que la pression correspondant à un degré de saturation de 100% dans la courbe de dissociation de l'oxyhémoglobine. A une époque où une juste notion de la différence qui peut régner, en ce qui concerne la p_{O_2}, entre le milieu intérieur à l'endroit anatomique de l'hématose, et le milieu extérieur, n'était pas courante, il apparaissait comme peu vraisemblable que la p_{O_2} tissulaire pût s'abaisser à des valeurs aussi faibles que celles qui correspondent aux positions inférieures des courbes de dissociation d'hémoglobines à forte affinité pour l'oxygène, telles qu'on les trouve chez les Invertébrés.

Nous assistons aujourd'hui à un renversement de tendance. Un procédé qui a maintes fois été utilisé pour mettre en évidence le rôle des hémoglobines d'invertébrés est celui qui consiste à éliminer l'intervention du transporteur d'oxygène en le combinant avec l'oxyde de carbone pour lequel l'hémoglobine a une très forte affinité sans toutefois inhiber le fonctionnement des oxydases cellulaires dont l'affinité pour l'oxyde de carbone est plus faible. C'est ainsi que Dausend[1] chez *Tubifex* et Krüger[2], puis Johnson[3] chez *Lumbricus* ont observé que la consommation d'oxygène est moindre chez les animaux traités par l'oxyde de carbone que chez les animaux normaux, et cela même quand la p_{O_2} du milieu extérieur est la pression partielle de l'oxygène dans l'air atmosphérique. Dans son étude sur le lombric, Johnson apprécie par le détour de la mesure des consommations d'oxygène chez les animaux traités par l'oxyde de carbone et chez les animaux non traités, la quantité d'oxygène transportée par le ministère de l'hémoglobine et il conclut que lorsqu'on compare les valeurs obtenues dans différentes conditions de p_{O_2} extérieures décroissantes, on observe une chute rapide débutant entre 38 et 19 mm de p_{O_2} extérieure.

Il en déduit que la p_{O_2} correspondant la saturation de l'hémoglobine de lombric par l'oxygène doit être supérieure à 19 mm de mercure. C'est là une conclusion qui n'est pas justifiée. On doit dire plus justement qu'elle doit être supérieure à la p_{O_2} qui règne dans le sang artériel quand la p_{O_2} extérieure est de 19 mm, et il s'agit vraisemblablement d'une valeur beaucoup plus basse, ce qui est d'ailleurs plus conforme aux caractères des hémoglobines d'Invertébrés et renforce la notion selon laquelle elles doivent fonctionner comme transporteurs. On sait quelle abondante littérature est consacrée à la fonction de l'hémoglobine du chironome. Des expériences récentes d'Ewer[4] accomplies dans de meilleures conditions techniques que les anciennes montrent que la transformation de l'hémoglobine en carboxyhémoglobine ne diminue pas la consommation d'oxygène de larves de *Chironomus* vivant dans de l'eau saturée d'air (7,5 cm^3 O_2 par l) à 17°. Si la teneur

[1] J. S. Haldane, Respiration, New Haven (1922). – F. G. Hall, Biol. Bull. *47*, 79 (1924). – W. Jacobs, Z. vergl. Physiol. *11*, 565 (1930). – J. v. Ledebur, Z. vergl. Physiol. *25*, 156 (1937).

[2] R. W. Root, Biol. Bull. *61*, 427 (1931).

[3] R. W. Root et L. Irving, Biol. Bull. *84*, 207 (1943).

[4] F. G. Hall, D. B. Dill et E. S. G. Barron, J. cell. and comp. Physiol. *8*, 301 (1936).

[1] K. Dausend, Z. vergl. Physiol. *14*, 557 (1931).

[2] F. Krüger, Verh. dtsch. zool. Ges., Leipzig *40*, 141 (1938).

[3] M. L. Johnson, J. exp. Biol. *18*, 263 (1942).

[4] R. F. Ewer, J. exp. Biol. *18*, 197 (1942).

de l'eau en oxygène descend en dessous de 3 cm^3 par litre, la consommation d'oxygène des animaux traités par le CO est plus faible que celle des animaux non traités. D'autre part, Leitch[1] a observé qu'à 17°, si on réduit progressivement la teneur de l'eau en oxygène, le sang se réduit complètement quand la p_{O_2} de l'eau correspond à 2,9 mm. On peut donc admettre que l'hémoglobine reste complètement oxygénée quand la p_{O_2} extérieure est supérieure à 60 mm de Hg environ, et qu'elle reste complètement réduite aux valeurs de la p_{O_2} extérieures moindres que 3 mm environ. Entre ces limites, il est raisonnable d'admettre que l'hémoglobine agit comme transporteur, puisque la larve de *Chironomus* est pourvue d'un système circulatoire bien individualisé (Pause[2]). La difficulté qui persiste est la forte affinité de l'hémoglobine du chironome pour l'oxygène (p_{50} = 0,6 mm de Hg à 17°) et le fait que cette forte affinité, favorable à la charge, n'est pas corrigée par un déplacement de la courbe vers la droite au niveau des tissus, puisque l'effet Bohr n'existe pas (Fox[3]). La combinaison faible affinité — fort effet Bohr telle que nous l'avons signalée chez les Poissons comme adaptation aux conditions du milieu apparaît en effet, dans le domaine des sangs à hémoglobine, comme une acquisition des Vertébrés.

Quoi qu'il en soit, l'hémoglobine du chironome est vraisemblablement un transporteur d'oxygène utilisé par la larve lorsqu'elle vit dans des milieux pauvres en oxygène. La validité de cette conclusion ne peut cependant être confirmée que par une étude écologique et physiologique des larves de chironomides pourvues ou dépourvues d'hémoglobine.

Dans une pareille étude on ne doit pas perdre de vue que le rôle d'un transporteur d'oxygène n'est pas uniquement de prendre de l'oxygène au milieu, mais encore de le livrer aux tissus en quantités correspondant au métabolisme, lequel doit être pris en considération dans les études comparatives.

Pendant la période au cours de laquelle la notion de la forte affinité pour l'oxygène des hémoglobines des Invertébrés a détourné les biologistes d'accepter le rôle transporteur de ces hémoglobines, la tendance a été de leur conférer le rôle d'accumulateurs d'une réserve d'oxygène, pouvant être utilisée dans des éventualités plus ou moins nettes d'anaérobiose. La tendance actuelle est vers l'abandon de ce rôle d'accumulateur de réserve (Fox[4]). C'est là une réaction excessive.

La fixation d'une réserve sur l'hémoglobine est un phénomène général qui s'observe aussi chez les Vertébrés. Lorsque le sang veineux quitte les tissus pour reprendre son chemin vers le cœur, la pression partielle de l'oxygène dans le sang est respectivement de 40 mm de mercure chez l'homme (A.V.B.)[1], de 38 mm chez le cheval[1], de 56 mm chez l'oie[2], de 37 mm chez le canard[2], de 15 mm chez la tortue *Chelydra serpentina*[1], de 14 mm chez la raie *Raia ocellata*[3], et le degré de saturation correspondant est respectivement de 60% chez l'homme, de 70% chez l'oie, de 38% chez le canard, de 35% chez la tortue *Chelydra* et de 33% chez la raie. D'une part est assuré ainsi au niveau de l'échange avec les tissus un gradient de concentration de pressions d'oxygène qui est un facteur important de la fourniture de cet élément aux cellules. D'autre part, le sang veineux reste chargé d'une réserve d'oxygène à laquelle il est fait appel lors d'une augmentation de métabolisme, ou lorsque l'hématose est en défaut.

Le rôle de cette réserve est bien mis en évidence chez les phoques, qui, au cours de la plongée utilisent presque totalement la charge d'oxygène de leur sang[4]. La réduction presque totale du sang veineux a été signalée chez d'autres animaux plongeurs, comme le canard[5] et le rat musqué[4].

Les conditions typiques de l'utilisation, comme réserve, de la charge de l'hémoglobine apparaissent au cours des périodes de suspension des mécanismes respiratoires de la charge d'oxygène. Chez un Invertébré dépourvu de circulation comme *Urechis*, ce rôle de réserve apparaît de manière particulièrement nette. L'échiurien *Urechis caupo* dont la fonction respiratoire du liquide cœlomique a été étudiée par Redfield et Florkin[6], habite, le long de la côte californienne, des sables vaseux et il vit dans un tube en U dans lequel il fait au cours de ses périodes d'activité, circuler l'eau, par le jeu du péristaltisme de son tube musculo-cutané. L'eau continuellement renouvelée, lui apporte sa nourriture sous la forme de microorganismes qu'il retient dans un entonnoir muqueux fort élégamment construit. Elle lui apporte aussi de l'oxygène. En effet, au fur et à mesure que l'eau circule, et par le jeu d'un péristaltisme de sens inverse de celui de son tube musculocutané, l'animal «l'inspire» en quelque sorte à travers l'anus dans son intestin terminal, très développé, et dont la paroi très amincie est en contact avec le liquide chargé d'hématies à hémoglobine qui remplit sa vaste cavité cœlomique. A une série de ces mouvements d'inspiration, fait suite un seul mouvement d'expiration au cours duquel l'animal rejette toute l'eau que contient son intestin. Dans de l'eau bien oxygénée, l'hémoglobine du liquide cœlomique est presque complètement saturée (97%) bien que la pression partielle d'oxygène y soit de 75 mm de mercure seulement, c'est-à-dire

[1] J. Leitch, J. Physiol. *50*, 370 (1916).
[2] J. Pause, Zool. Jb., Abt. allg. Zool. und Physiol. *36*, 339 (1918).
[3] H. M. Fox, J. exp. Biol. *21*, 161 (1945).
[4] H. M. Fox, Nature *145*, 781 (1940).

[1] L. J. Henderson, Blood. A study in general Physiology (Yale Univ. Press, New Haven, 1928).
[2] H. Wastl et G. Leiner, Pflügers Arch. *227*, 421 (1931).
[3] D. B. Dill, H. T. Edwards et M. Florkin, Biol. Bull. *62*, 23 (1932).
[4] L. Irving, O. M. Solandt, D. Y. Solandt et K. C. Fisher, J. cell. and comp. Physiol. *6*, 393 (1935).
[5] P. Langlois et C. Richet, C. R. Soc. Biol. *20*, 483 (1898).
[6] A. C. Redfield et M. Florkin, Biol. Bull. *61*, 185 (1931).

notablement moindre que dans l'eau ambiante (environ 150 mm). Si l'animal reste dans ces conditions, son hémoglobine reste presque complètement saturée et l'oxygène dissous suffit aux besoins de l'animal. Ce dernier, comme nous l'avons dit, aspire dans son intestin terminal de l'eau de mer et la rejette après avoir oxygéné à ses dépens son liquide cœlomique. (Dans l'eau d'expiration $p_{O_2} = 100$ mm environ.) Dans ces conditions il n'utilise pas son hémoglobine. Le volume du liquide cœlomique étant, pour l'individu que nous considérons, de 20 cm³, et son pouvoir oxyphorique étant de 4 volumes pour cent, son liquide cœlomique contient en tout 0,8 cm³ d'oxygène. La consommation d'oxygène d'un *Urechis* moyen étant d'environ 0,01 cm³ par minute, on voit qu'une faible portion de l'oxygène doit être remplacée pendant chaque minute, et l'oxygène qui est apporté sous forme dissoute y suffit[1]. Dans les conditions de ses périodes d'activité, coïncidant avec ses périodes d'alimentation, *Urechis* vit donc aux dépens de l'oxygène qui lui est fourni, sous forme d'oxygène dissous, par son appareil respiratoire particulier. Mais quand l'animal se retire dans la portion médiane de la région horizontale de son tube après une période d'activité, il y reste immobile, et cesse de faire circuler l'eau et de l'aspirer dans son tube digestif.

L'oxygène total contenu dans son liquide cœlomique et dans l'eau de son intestin correspond à la quantité qu'il consomme pendant 70 minutes, alors que si le liquide cœlomique ne contenait pas d'hémoglobine, l'oxygène serait consommé en 14 minutes. La présence de l'hémoglobine permet donc à l'animal une période de repos multipliée par 5, entre ses périodes d'activité.

Quand l'*Urechis* respire, il assure à l'eau de son intestin terminal une p_{O_2} de 100 mm, quand la p_{O_2} de l'eau est de 150 mm.

Dans ces conditions la p_{O_2} du liquide cœlomique est de 75 mm. Ces conditions correspondent à un degré de saturation de 97%. L'hémoglobine des hématies reste saturée et l'oxygène diffuse de l'eau intestinale vers le plasma sanguin et de là vers les tissus sans qu'on puisse mettre en évidence de rôle transporteur de l'hémoglobine, laquelle ne circule pas. Au cours de ses périodes de repos, l'animal cesse de respirer. Il ne renouvelle donc plus l'oxygène de son eau intestinale et par conséquent la p_{O_2} de son plasma cœlomique va diminuer, ce qui entraînera aussitôt, une libération d'oxygène par l'hémoglobine.

Il est vraisemblable que l'hémoglobine de *Planorbis* joue aussi un rôle de réservoir d'hémoglobine, puisque la planorbe vient respirer à la surface de l'eau périodiquement et que dans l'intervalle de ces épisodes inspiratoires la p_{O_2} de son sang doit baisser progressivement. C'est là un phénomène analogue à celui qui se produit au cours de la plongée d'un phoque. L'arénicole vit dans un tube dont l'extrémité, correspondant à l'extrémité postérieure du ver, s'ouvre à la surface du sable et il présente une ventilation rythmique de sa galerie dans laquelle il fait pénétrer l'eau au cours de périodes de ventilation qui durent 10 à 15 minutes et qui sont séparées par des périodes de repos qui peuvent durer jusqu'à 50 minutes[1]. Au cours des périodes de repos, il est vraisemblable que la p_{O_2} veineuse diminue plus qu'au cours des périodes d'activité et que, par conséquent, la réserve d'oxygène telle qu'elle a été définie plus haut, se trouve entamée.

En fait, le rôle de porteur de réserve, traduit par le maintien dans le sang veineux d'un certain degré de saturation qui est entamé au cours des circonstances qui amènent un abaissement plus marqué que normalement de la pO_2 au niveau du sang veineux, est une fonction générale de l'hémoglobine.

Si le rôle de réserve apparaît plus nettement chez *Urechis*, c'est parce qu'il n'a pas de cycle respiratoire et parce que la fonction de transporteur est réduite chez lui à des proportions qu'il est difficile de préciser.

L'hémoglobine ne transporte pas seulement l'oxygène mais elle agit soit directement, soit indirectement, dans le phénomène de transport de l'anhydride carbonique.

En 1928, Henriques[2] a apporté des arguments en faveur de l'hypothèse selon laquelle l'acide carbonique peut se combiner avec l'hémoglobine pour former des combinaisons du type de l'acide carbamique

$$Hb\,NH_2 + CO_2 = Hb\,NH\,COOH = Hb\,NH\,COO^- + H^+$$

Ferguson et Roughton[3] ont démontré expérimentalement le bien-fondé de cette hypothèse et Ferguson[4] a montré que 8 à 10% du CO_2 total sont transportés selon ce mode chez le bœuf et 10—16% chez l'homme. Malheureusement l'étude comparative de ce phénomène doit encore être réalisée. Ferguson, Horvath et Pappenheimer[5] ont vainement tenté de le mettre en évidence chez la roussette *Mustelus canis*. Dans l'étude du sang de *Crocodilus acutus* publiée par Dill et Edwards[6] en 1931, c'est-à-dire avant les travaux de Roughton, on trouve l'indication de l'apparition dans les globules, lors de la réduction, d'une quantité de CO_2 combiné plus élevée que celle qui serait conforme aux relations d'équilibre définies par Van Slyke, Wu et McLean[7]. Il y a peut-être là une indication de combinaison sous forme de carbamate.

La forme la plus générale et la plus primitive de l'intervention de l'hémoglobine dans le transport du CO_2 résulte des variations de sa dissociation avec la réac-

[1] V. E. Hall, Biol. Bull. *61*, 401 (1931).

[1] L. Van Dam, Zool. Anz. *118*, 122 (1937).

[2] O. M. Henriques, Biochem. Z. *200*, 1, 5, 10, 18, 22 (1928).

[3] J. K. W. Ferguson et F. J. W. Roughton, J. Physiol. *83*, 68 (1934).

[4] J. K. W. Ferguson, J. Physiol. *88*, 40 (1937).

[5] J. K. W. Ferguson, S. M. Horvath et J. R. Pappenheimer, Biol. Bull. *75*, 381 (1938).

[6] D. B. Dill et H. T. Edwards, J. biol. Chem. *90*, 515 (1931).

[7] D. D. Van Slyke, H. Wu et F. C. McLean, J. biol. Chem. *56* 765 (1923).

tion. Quand le p_H diminue et se rapproche du point isoélectrique de l'hémoglobine, cette dernière abandonne de la base qui devient utilisable pour une combinaison avec l'acide carbonique.

L'hémoglobine se place ainsi parmi les substances contenues dans le sang et dont la dissociation varie avec la réaction, substances dont l'intervention explique la classique «courbe de dissociation de l'acide carbonique». L'hémoglobine dont la capacité de combinaison pour les bases est notablement plus élevée que celle des protéines du plasma est un facteur prépondérant de la position des courbes de dissociation des sangs qui la contiennent.

Il existe encore un autre mode d'intervention de l'hémoglobine dans le transport du CO_2. C'est le fait que, chez les animaux supérieurs tout au moins, sa dissociation varie avec l'oxygénation. L'oxygénation de l'hémoglobine déplace son point isoélectrique: chez le cheval, par exemple, alors que le point isoélectrique de l'hémoglobine réduite correspond au p_H 6,78, celui de l'oxyhémoglobine correspond au p_H 6,65[1]. Au p_H isoélectrique, l'hémoglobine fixe des quantités équivalentes, assez faibles, d'acides et de bases, mais le p_H régnant dans les hématies étant alcalin par rapport au point isoélectrique, l'hémoglobine s'y trouve à l'état de sel, en combinaison avec des bases.

Au p_H du sang, l'hémoglobine se comporte comme un acide polyvalent disposant d'au moins cinq groupements acides par atome de fer.

L'oxyhémoglobine du cheval dont le point isoélectrique est au p_H 6,65, contient, entre autres, une fonction acide (ou un groupe de fonctions) faiblement dissociée dont le $p_K = 6{,}16$. Cette fonction, dans les hématies du sang oxygéné de cheval dont le p_H est égal à 7,1, est en grande partie saturée par des bases. L'hémoglobine présente un caractère moins acide, puisque son point isoélectrique est au p_H 6,8. Cette modification du point isoélectrique par la variation d'oxygénation est due à une forte diminution de la dissociation des groupements acides voisins du groupement oxygénable, et dont nous avons parlé ci-dessus. Leur p_K passe de 6,16 à 7,80. Lorsqu'une telle transformation se produit dans un milieu dont le p_H ne varie pratiquement pas, elle comporte la libération des bases fixées à cette fonction. Le fait que la réduction du sang relève sa courbe d'absorption du CO_2, connu sous le nom d'«effet Haldane» apparaît comme un caractère d'évolution de l'hémoglobine. On ne le décèle pas, en effet, au niveau du sang de la raie[2], de la roussette *Mustelus canis*[3] ou d'*Urechis*[4] qui contiennent des hémoglobines dont la dissociation ne varie pas avec l'oxygénation.

[1] D. D. Van Slyke, A. B. Hastings, M. Heidelberger et J. M. Neill, J. biol. Chem. *54*, 81 (1922).

[2] D. B. Dill, H. T. Edwards et M. Florkin, Biol. Bull. *62*, 23 (1932).

[3] J. K. W. Ferguson, S. M. Horvath et J. R. Pappenheimer, Biol. Bull. *75*, 381 (1938).

[4] A. C. Redfield et M. Florkin, Biol. Bull. *61*, 185 (1931).

Ce que nous avons dit des hématinoprotéides oxygénables dérivées du protohème et appelées hémoglobines aura sans doute convaincu le lecteur de ce que ces substances ne constituent pas partout des entités chimiques identiques comme c'est le cas à travers le règne animal pour les molécules d'urée ou d'acide urique. Il existe une série de variétés d'hémoglobines et cette notion a même conduit à différentes reprises à attribuer une dénomination particulière aux hémoglobines des Invertébrés auxquelles Vlès[1] donne le nom de *protohémoglobines* et Svedberg et Eriksson-Quensel[2], reprenant une suggestion de Ray Lankester, celui d'*érythrocruorines*. On doit espérer que la suggestion de Keilin et Wang[3] qui estiment préférable d'abandonner ces dénominations et conserver le terme générique d'hémoglobines pour désigner l'ensemble des hématinoprotéides oxygénables dérivées du protohème, sera généralement acceptée, car il n'y a aucune raison de réserver l'ancienne dénomination générale à une hémoglobine particulière, celle des Vertébrés, pour attribuer une dénomination particulière nouvelle à un ensemble complexe d'autres hématinoprotéides oxygénables dérivées du protohème.

Les différences qui séparent les diverses hémoglobines et qui caractérisent les degrés plus ou moins marqués de leur homologie biochimique sont vraisemblablement dues aux caractères de la portion protéinique de leurs molécules.

L'homologie est d'un ordre différent entre hémoglobines et chlorocruorines qu'entre les diverses variétés d'hémoglobines lesquelles sont toutes des dérivés du protohème. Les chlorocruorines contiennent en effet un hème différent, le chlorocruorohème, dérivé de la chlorocruoroporphyrine, qui est l'acide 1,3,5,8-tétraméthyl-2-formyl-4-vinylporphyrine-6,7-dipropanoïque.

L'hème des chlorocruorines se distingue donc de celui des hémoglobines (qui est un dérivé de la protoporphyrine ou acide 1, 2, 3, 5, 8-tétraméthyl-2, 4-divinylporphine-6,7-dipropanoïque) par une différence minime, l'oxydation du groupement vinyle 2. On trouve de la chlorocruorine, à l'état dissous, dans le plasma sanguin des membres d'un petit nombre de groupes bien délimités d'Annélides polychètes, les Chlorémiens, les Sabelliens et les Serpuliens. Le pigment a reçu son nom de Ray Lankester[4] en 1867. Oxygéné, il est vert en solution diluée et rougeâtre en solution concentrée. Le pigment réduit est, en solution diluée, de couleur jaunâtre.

La chlorocruorine a été le sujet d'une série d'importantes études de Fox[5]. Comme c'est le cas pour les

[1] F. Vlès, Arch. Phys. Biol. *2*, nº 6, 1 (1923).

[2] T. Svedberg et I. B. Eriksson-Quensel, J. Am. chem. Soc. *55*, 2834 (1933).

[3] D. Keilin et Y. L. Wang, Biochem. J. *40*, 855 (1946).

[4] E. R. Lankester, J. Anat. and Physiol. *2*, 114 (1867).

[5] H. M. Fox, Proc. Cambr. Phil. Soc. *1*, 204 (1924); Arch. Phys. Biol. *5*, 85 (1926); Proc. Roy. Soc., London, Ser. B, *99*, 199 (1926); *111*, 356 (1932); *115*, 368 (1934).

Tableau VI

	Point isoélectrique	Poids moléculaire[5] 17000 (±)	Teneur en acides aminés[6]			
			Cystine %	Arginine %	Histidine %	Lysine %
Hémoglobine de cheval . . .	6,78[1]	4	0,74	3,57	8,13	8,31
Hémoglobine de lombric . . .	5,28[2]	192	1,41	10,07	4,68	1,73
Hémoglobine d'arénicole . . .	4,76[3]	192	4,08	10,04	4,03	1,85
Chlorocruorine de *Spirographis*	4,3[4]	192	1,64	9,64	2,38	3,64

hémoglobines, la combinaison de l'oxygène à la chlorocruorine se fait jusqu'à concurrence de la fixation d'une molécule d'oxygène par atome de fer[7]. Il existe entre les chlorocruorines provenant de diverses espèces, notamment sous le rapport du spectre d'absorption, des différences légères analogues à celles qui distinguent les hémoglobines. Les différentes chlorocruorines contiennent le même hème, ce que démontre le fait que les chlorocruorohémochromogènes (combinaisons du chlorocruorohème et d'une substance azotée) d'une même substance azotée, préparés à partir de différentes chlorocruorines, sont identiques[8]. Si, à de la globine de bœuf, on combine un chlorocruorohème, on obtient une chlorocruorine, comme l'indiquent les caractères du spectre d'absorption[9]. La nature du constituant protéinique influence la position des bandes du spectre visible, qui n'est pas identique pour les différentes chlorocruorines provenant de l'union d'un chlorocruorohème d'origine déterminée avec différentes globines[10].

On doit donc admettre que le type de spectre d'absorption caractéristique des chlorocruorines est dû à la présence d'un hème commun, et les différences spécifiques à la présence de constituants protéiniques légèrement différents.

Le spectre d'absorption de l'oxychlorocruorine est, comme celui de l'hémoglobine, un spectre de dérivé d'hème.

On trouve dans le visible deux bandes α et β, correspondant aux bandes de même nom dans le spectre de l'oxyhémoglobine. On trouve en outre une bande peu prononcée (β') qui n'a pas d'analogue dans le cas de l'oxyhémoglobine. Dans l'ultra-violet, on observe l'existence de trois bandes, correspondant aux bandes γ, γ' et φ de l'hémoglobine[11]. On trouvera dans le tableau VI une série de caractéristiques de la chlorocruorine de *Spirographis* comparées aux caractéristiques correspondantes des hémoglobines du cheval, du lombric et de l'arénicole. Ce tableau montre nettement que s'il existe des propriétés qui justifient la distinction entre hémoglobines et chlorocruorines, il en existe d'autres qui rapprochent les hématinoprotéides oxygénables des Annélides, que ces hématinoprotéides soient du type hémoglobine ou du type chlorocruorine. En somme la chlorocruorine apparaît comme une mutation chimique de l'hémoglobine des Annélides, ayant conservé différents caractères typiques de cette hémoglobine.

Il n'est pas possible de passer sous silence, dans un exposé de la biologie des hématinoprotéides oxygénables, la question de leur métabolisme, quelle que soit la pauvreté du chapitre de la biochimie comparée qui leur est consacré.

Si obscur que puisse rester l'anabolisme de l'hémoglobine chez les Vertébrés adultes, le lieu de sa synthèse est bien défini et localisé dans la moelle osseuse, tandis que chez les Invertébrés, aucune indication n'existe quant au mécanisme de la synthèse de l'hémoglobine ou de la chlorocruorine, pas plus qu'au lieu de cette synthèse.

Quant au catabolisme de l'hémoglobine chez les Vertébrés, on s'accorde aujourd'hui pour admettre que les étapes de son déroulement vers la formation de pigments biliaires sont, entre autres, la perte du fer et la formation de pseudohémoglobine, par ouverture du cycle tétrapyrrolique[1]. Chez les Invertébrés, on a tendance à admettre que le processus s'accomplirait par le stade intermédiaire de l'hématine, c'est-à-dire non par perte de fer dans la première étape, mais par perte de globine, le fer étant ensuite séparé du noyau tétrapyrrolique qui serait excrété sous forme de porphyrine. Les arguments en faveur de cette théorie sont: le fait qu'on ne peut mettre en évidence de pigments biliaires dans l'organisme des Invertébrés, le fait qu'on a parfois mis en évidence, dans des cellules d'Invertébrés, des grains d'hématine (c'est de cette nature que sont, d'après Baumberger et Michaelis[2], les gra-

[1] D. D. Van Slyke, A. B. Hastings, M. Heidelberger et J. M. Neill, J. biol. Chem. *54*, 81 (1922).
[2] T. Svedberg, J. biol. Chem. *103*, 311 (1933).
[3] K. O. Pedersen, Koll. Z. *63*, 268 (1933).
[4] J. Roche, C. R. Soc. Biol. *114*, 1190 (1933).
[5] T. Svedberg, Proc. Roy. Soc., Ser. B, *127*, 1 (1939).
[6] J. Roche et G. Jean, Bull. Soc. Chim. biol. *16*, 769 (1934). – J. Roche et M. Mourgue, Bull. Soc. Chim. biol. *23*, 1329 (1941).
[7] H. M. Fox, Proc. Roy. Soc., Ser. B, *115*, 368 (1934).
[8] H. M. Fox, Arch. Phys. Biol. *5*, 85 (1926); Proc. Roy. Soc., London, Ser. B, *99*, 199 (1926).
[9] O. Warburg et E. Negelein, Biochem. Z. *244*, 9 (1932). – J. Roche, C. R. Soc. Biol. *114*, 1190 (1933).
[10] J. Roche, C. R. Soc. Biol. *114*, 1190 (1933).
[11] J. Roche et H. M. Fox, Proc. Roy. Soc., London, Ser. B, *114*, 161 (1934).

[1] C. Liebecq, Conception actuelle du Catabolisme de l'hémoglobine (Masson, Paris et Liège, Desœr, 1946); Exper. *4*, fasc. 4, 56 (1948).
[2] J. P. Baumberger et L. Michaelis, Biol. Bull. *61*, 417 (1931).

nulations décrites par Redfield et Florkin[1], dans les hématies d'*Urechis*) et le fait qu'on a parfois mis en évidence des porphyrines dans des tissus considérés, à tort ou à raison, comme des organes de la dégradation de l'hémoglobine[2].

Si on n'a pas de renseignements précis au sujet du catabolisme de l'hémoglobine ou de la chlorocruorine appartenant en propre à l'organisme d'un Invertébré, on a grâce à un très beau travail de Wigglesworth[3] de très intéressants renseignements quant au catabolisme de l'hémoglobine introduite dans le sang, soit directement par voie expérimentale, soit au cours de la digestion, chez un insecte suceur de sang, l'hémiptère *Rhodnius prolixus*. Le fait que Wigglesworth a pu mettre en évidence, chez cet Insecte, de la biliverdine dans les cellules péricardiques et un pigment de la nature de la choléglobine dans les cellules épithéliales de l'estomac et de l'intestin doit pousser à reconsidérer de près le catabolisme de l'hémoglobine des Invertébrés. Le passage du catabolisme des hématinoprotéides par un stade correspondant à l'ouverture du cycle tétrapyrrolique alors que ce cycle est en combinaison avec la protéine apparaît d'ailleurs comme un phénomène biologique assez général pour qu'on le retrouve chez des microorganismes tels que le pneumocoque, le streptocoque hémolytique, le streptocoque *viridans*, etc. cultivés dans des milieux au sang[4], chez la levure de boulangerie[5] et dans les nodules des racines de Légumineuses[6].

On reproche parfois à de mauvais peintres trop minutieux, de montrer si bien les feuilles qu'on ne voit plus la forêt. Cet exposé encourra sans doute le reproche inverse, pour avoir dans ce panorama de la biologie des hématinoprotéides oxygénables brossé la forêt à si larges traits qu'on n'y voit plus ni feuilles ni arbres.

Puisse-t-il cependant, en dépit de ses lacunes et de ses imperfections, avoir montré que le biologiste n'est ni téméraire ni inconsidéré lorsqu'il ambitionne de pousser jusqu'à l'échelle moléculaire des phénomènes de l'étude de concepts biologiques aussi fondamentaux que ceux d'adaptation et d'évolution.

Summary

The author reviews a series of biological aspects of the study of oxygenable hematinoproteids, particularly with respect to evolution and adaptation. After a statement of some fundamental concepts of comparative biochemistry and of possible evolutionary relations between oxidation catalysts and oxygen carriers, the natural distribution of hemoglobins is reviewed and their specific characters are enumerated.

A review is made of the data relating to the shape of the oxygen-dissociation curves and to the affinity of hæmoglobin for oxygen. It appears, generally speaking, that hyperbolic or almost hyperbolic curves and high affinity for oxygen are characteristic of primitive or embryonic hæmoglobins.

A study of the function of hæmoglobin in the respiratory cycle of several animal species shows the vital importance of the oxygen carrier as well as the adaptation of the shape and position of the dissociation curve to the character of the respiratory function in the animal considered.

The function of hæmoglobin in invertebrates, as oxygen carrier as well as providing a store of oxygen, is emphasized by a review of experimental data.

The function of oxygen in the transport of carbon dioxide is reviewed from the standpoint of comparative biochemistry, and the lack of our knowledge is deplored.

The characteristics of chlorocruorin show it to be a chemical mutation of an Annelid hæmoglobin.

Our lack of knowledge in the field of the comparative biochemistry of hæmoglobin and chlorocruorin metabolism is pointed out.

[1] A. C. Redfield et M. Florkin, Biol. Bull. *61*, 185 (1931).

[2] C. Raphael, Etude de la trompe des Glycères et de son organe excréteur d'hémoglobine (Thèse, Paris 1933).

[3] V. B. Wigglesworth, Proc. Roy. Soc., London, Ser. B, *131*, 313 (1943).

[4] A. B. Anderson et H. P. d'Arcy, J. Path. Bacter. *39*, 465 (1934).

[5] R. Lemberg et R. A. Wyndham, J. Proc. Roy. Soc., New South Wales *70*, 343 (1937).

[6] A. I. Virtanen, T. Laine et H. Linkola, Suomen Kemistilehti B, *18*, 36 (1945).

Brèves communications - Kurze Mitteilungen
Brevi comunicazioni - Brief Reports

Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces communications. – Für die kurzen Mitteilungen ist ausschließlich der Autor verantwortlich. – Per le brevi comunicazioni è responsabile solo l'autore. – The editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed by their correspondents.

Die polarographische Untersuchung von Chalkonen und Flavanonen

Die synthetischen und natürlichen Derivate der Chalkon- und Flavanonreihe sind schon Gegenstand zahlreicher Arbeiten gewesen. In chemischer Hinsicht wurden diese Verbindungsklassen besonders von St. v. Kostanecki und Mitarbeiter[1] und von A. G. Perkin[2] untersucht. In neuerer Zeit haben L. Reichel und Mitarbeiter[3] die Synthese von Chalkonen und Flavanonen unter physiologischen Bedingungen durchgeführt. Bei eigenen Untersuchungen[4] über Chalkone und Flavanone war es von besonderem Interesse, eine eindeutige Unterscheidungsmöglichkeit zwischen der Chalkon- und Flavanonform aufzufinden, mit der es eventuell auch möglich ist, beide Verbindungen nebeneinander nachzuweisen. Ferner sollte die Bildungsgeschwindigkeit von Chalkonen festgestellt werden.

Das Chalkon wurde bereits von R. Pasternak und H. v. Halban[5] polarographisch untersucht. Es zeigte bei −1,19 und bei −1,68 V Stufen. Die erste Stufe beruht auf der Hydrierung der Doppelbindung, während die zweite Stufe auf die Reduktion der Ketogruppe zurückzuführen ist. In eigenen Versuchen ergaben alle untersuchten Chalkone sowohl in neutraler als auch in alkalischer Grundlösung ausgeprägte Doppelstufen.

Verbindung	Grundlösung			
	0,4 n $(NH_4)_2SO_4$ in 40%ig. Isopropan.		0,1 n NaOH in 50%ig. Isopropan.	
Chalkon	−1,18	−1,48	—	—
2′-Oxychalkon . .	−1,28	−1,50	−1,18	−1,50
2-Oxychalkon . . .	−1,27	−1,46	—	—
2, 2′-Dioxychalkon .	−1,36	−1,50	—	—
2, 2′-Dioxy-5-brom-chalkon	−1,27	−1,46	−1,26	−1,50
Furfuryliden-2-oxy-azeto-phenon . .	−1,32	−1,60	—	—
Cinnamyliden-2-oxy-azetophenon. . .	—	—	−1,07	−1,45
2′-Oxy-5′-brombenzyliden-2-oxy-1-azetonaphthon. .	−1,30	−1,90	—	—

Die angegebenen Werte (in Volt) entsprechen dem Halbstufenpotential nach der Definition von J. Heyrovsky[6].

[1] St. v. Kostanecki und Mitarbeiter, Ber. dtsch. Chem. Ges. *29*, 1492 (1896); *32*, 1923 (1899); *37*, 2635 (1904).

[2] A. G. Perkin, Proc. Chem. Soc. *20*, 169 (1904). – A. G. Perkin und J. J. Hummel, J. Chem. Soc. *85*, 1459 (1904).

[3] L. Reichel und Mitarbeiter, Ber. dtsch. Chem. Ges. *76*, 1132, 1134 (1943); *74*, 1741, 1802 (1941); Liebigs Ann. Chem. *553*, 83, 98 (1942).

[4] E. Schraufstätter und S. Deutsch, Chemische Berichte, im Druck.

[5] R. Pasternak und H. v. Halban, Helv. chim. acta *29*, 190 (1946).

[6] J. Heyrovsky, Polarographie (Springer, Berlin 1943).

Als die geeignetste Grundlösung für die Bestimmung der Chalkone erwies sich 0,1n NaOH in 50%igem Isopropanol, da bei Pufferlösungen und selbst auch bei Neutralsalzlösungen häufig eine dritte kleine Stufe zwischen −1,80 und −1,96 V zu bemerken war. Diese Erscheinung dürfte wahrscheinlich darauf zurückzuführen sein, daß in Pufferlösung ein geringer Prozentsatz des Chalkons als Flavanon vorliegt. Durch die weiteren Ergebnisse wurde diese Vermutung sehr wahrscheinlich gemacht, da die polarographischen Reduktionspotentiale der Flavanone meist in der Größenordnung von −1,8 V liegen und diese Potentiale bei Mischungen mit Chalkonen zu negativeren Werten verschoben werden.

Das Flavanon wurde schon von H. Adkins und F. W. Cox[1] polarographisch untersucht. In $(CH_3)_4N \cdot OH$ als Grundlösung zeigte es zwei Stufen, nämlich bei −1,12 V und −1,89, während in NH_4Cl das Reduktionspotential bei −1,47 V lag. Eigene Bestimmungen in 0,4 n $(NH_4)_2SO_4$ in 40%igem Isopropanol ergaben folgende Werte:

Flavanon	−1,80 V
2′-Oxy-5, 6-benzoflavanon.	−1,74 V
2′-Oxy-5′-brom-5, 6-benzoflavanon .	−1,74 V

Es kann daher bei Verwendung einer schwachsauren oder einer neutralen Grundlösung schon am Vorhandensein einer oder zweier Stufen festgestellt werden, ob ein Chalkon oder ein Flavanon vorliegt. Die Untersuchung von Flavanon in 0,1n NaOH in 50%igem Isopropanol lieferte Reduktionspotentiale bei −1,18 und −1,49 V. Es sind dies die gleichen Werte, wie sie beim 2′-Oxychalkon erhalten worden sind. Durch Zugabe einer Lösung von 2′-Oxychalkon konnte die Identität der Stufen festgestellt werden. Auch nach Ansäuern der alkalischen Flavanonlösung mit Essigsäure wurde dasselbe polarographische Ergebnis, wie bei einer unter gleichen Bedingungen untersuchten 2′-Oxychalkonlösung, erzielt. Aus diesen Resultaten ist ersichtlich, daß das Flavanon durch 0,1n NaOH in 50%igem Isopropanol sofort und irreversibel in 2′-Oxychalkon umgewandelt wird. Die Überführung von Chalkon in das Flavanon ist nach L. Reichel und W. Burkart[2] in Zitrat-HCl-Puffer möglich. Diese Übergänge zwischen Flavanon und Chalkon und umgekehrt, wie sie bei den natürlichen Vertretern dieser Verbindungsklassen in der Pflanze angenommen werden müssen, können, wie sich aus weiteren Versuchen ergab, polarographisch verfolgt werden. In 0,1n NH_4Cl in 50%igem Isopropanol gelang es, das 2′-Oxychalkon neben dem Flavanon nachzuweisen, wenn auch die Genauigkeit dieser Untersuchung durch das Vorhandensein einer kleinen dritten Stufe des 2′-Oxychalkons etwas leidet. Bei der Prüfung weiterer Grundlösungen auf ihre Brauchbarkeit würden sich sicherlich noch bessere Bedingungen finden lassen. Die polarographische Bestimmung von Chalkonen und Flavanonen wird gegenüber der chemischen Identifizierung immer dann von Vorteil sein, wenn für die letztere Nachweis-

[1] H. Adkins und F. W. Cox, J. Am. Chem. Soc. *60*, 1151 (1938).

[2] L. Reichel und W. Burkart, Ber. dtsch. Chem. Ges. *74*, 1802 (1941).

methode p_H-Änderungen oder gar chemische Reaktionen erforderlich sind, da das Verhältnis zwischen Chalkon und Flavanon schon durch geringe physikalische oder chemische Einflüsse verändert wird.

Die Bildungsgeschwindigkeit eines Chalkons aus einem Azetophenon und einem Aldehyd ließ sich polarographisch gut verfolgen. Als Beispiel wurde das 2, 2'-Dioxy-5-bromchalkon gewählt, da sich bei dieser Verbindung sowohl der Aldehyd, als auch das Azetophenon neben dem Chalkon eindeutig nachweisen ließen. Die erhaltenen Werte stimmen gut mit dem Ablauf einer Reaktion zweiter Ordnung überein. Nach 8 Stunden waren 79% des betreffenden Chalkons gebildet.

Die polarographische Bestimmung von Chalkonen und Flavanonen im Pflanzenmaterial wird derzeit durchgeführt.

E. Schraufstätter

Erlangen, den 9. Januar 1948.

Summary

It has been found by polarographic analysis in neutral or acid solution that chalcones show two reduction potentials, while flavanones show only one.

It was possible to determine 2'-hydroxy-chalcone beside flavanone with a polarograph.

The formation rate of a chalcone from an aldehyde and a ketone could be followed polarographically.

Existence de sels biliaires et de cérébrosides associés à des protéines chez *Moniezia expansa*

(Recherches biochimiques sur les Cestodes)

Nous avons déjà montré[1] que des acides biliaires accompagnaient certaines fractions protéiques extraites des vers. Nous poursuivons ici l'étude de la fraction la plus riche en sels biliaires.

Rappelons comment fut obtenue cette fraction: les Moniézias fraîchement récoltés à l'abattoir dès la mort des moutons, sont rapidement lavés par de l'eau salée isotonique, puis congelés et broyés à froid. On les délipide par de l'alcool absolu froid (au-dessous de 0° C), puis par de l'éther froid. La poudre délipidée est épuisée par de l'eau distillée (dans une glacière). On obtient de grands volumes de solution que l'on dialyse sous pression contre de l'eau distillée. La dialyse enlève des substances diffusibles. De plus, grâce à la pression (1 atm.); il se produit une considérable exosmose qui concentre les substances non diffusibles. On arrête la dialyse après huit jours, alors que le volume n'est plus que 0,6 ml par g de ver.

Au cours de la dialyse, il se forme progressivement un précipité blanc que l'on recueille et lave par de l'eau. La matière lavée est la fraction qui nous intéresse ici. Elle est insoluble dans l'eau, même si l'on ajoute du chlorure de sodium et même si l'on ramène le p_H à 7 par un peu de soude (pour dissoudre, il faudrait atteindre p_H 9). La précipitation pendant la dialyse n'est donc pas simplement due à la baisse de concentration saline, ni à l'évolution du p_H vers l'isoionique moyen des protéines.

Dans cette fraction, nous avions déjà décelé des sels biliaires et des protéines. Pour les séparer, il avait été nécessaire de pratiquer une longue alcoolyse par de l'alcool absolu bouillant. Après cette opération, nous avions laissé refroidir et recueilli la solution alcoolique dans laquelle nous avions décelé les sels biliaires. La partie insoluble dans l'alcool était riche en protéines, mais sa teneur en azote était seulement 8,6%. Nous avions donc conclu qu'il ne s'agissait pas d'une protéine pure mais nous n'en avions pas poussé l'étude. Nous avons pu reprendre cette étude en opérant sur de copieux échantillons de vers qui nous ont fourni une masse importante de la fraction. Donnons immédiatement nos conclusions principales, il nous sera plus facile ensuite d'exposer la technique de séparation: la fraction se scinde par alcoolyse en 1° des protéines; 2° des acides biliaires; 3° des cérébrosides; 9° du glycogène.

L'alcoolyse doit être effectuée par de l'alcool très fort et l'ébullition doit être maintenue une quarantaine d'heures. On filtre à chaud, puis on lave par de l'alcool bouillant. Nous reviendrons plus loin sur l'étude du résidu insoluble (il contient protéines et glycogène). Les solutions alcooliques sont placées dans une glacière, il s'y forme lentement un précipité N° 1 que l'on recueille. La solution mère est concentrée au quart de son volume par distillation sous vide, puis refroidie à la glacière; il y apparaît un précipité N° 2 dont la solution mère est encore une fois concentrée puis refroidie pour faire déposer le précipité N° 3 que l'on sépare. Un traitement méthodique des précipités par l'alcool en élimine les parties les plus solubles qui viennent rejoindre les solutions mères. On finit par obtenir d'une part la partie la plus soluble à froid qui est constituée par des sels biliaires typiques et d'autre part la partie la moins soluble à froid qu'il fallut identifier.

Il s'agit de substances blanches solubles dans l'alcool à chaud mais très peu solubles à froid, solubles dans la pyridine à froid et dans l'acétone à chaud, insolubles dans l'eau et très peu solubles dans l'éther. Elles contiennent 2,7% d'azote et pas de phosphore. Elles ne donnent plus les réactions des sels biliaires; la réaction de Pettenkofer conduit à un anneau brun rougeâtre sans trace de violet. Pour identifier cette substance, nous l'avons soumise à une hydrolyse acide qui libéra lentement un ose et des acides gras. Nous avons donc pensé avoir affaire à des cérébrosides et nous avons pratiqué leur décomposition en milieu alcoolique par de l'acide sulfurique à 10% dans de l'alcool absolu. Après chauffage pendant cinq heures, on refroidit à la glacière. Il se forme un précipité constitué par des esters éthyliques d'acides gras. La solution mère contient un ose et de la sphingosine. On lui ajoute un volume égal d'eau et l'on concentre sous vide jusqu'au tiers afin d'éliminer l'alcool. Le résidu est refroidi à la glacière, la sphingosine précipite à l'état de sulfate. Le liquide surnageant contient l'ose que nous avons identifié par microchromatographie sur papier[1]. Il s'agit de galactose. Ayant ainsi déterminé les constituants du cérébroside, nous les avons dosés: 32 mg du cérébroside ont donné 14 mg d'esters d'acides gras (47% d'esters, donc 44% d'acide gras) 9,8 mg de sphingosine (32%) et 6,5 mg de galactose (21,7%). Les teneurs calculées pour un cérébroside tel que la cérasine seraient: acide gras 45,3%; sphingosine 36,8% et galactose 22,1%, ce qui correspond bien à nos résultats, étant donné que le sulfate de sphingosine n'est pas rigoureusement insoluble donc que notre dosage de sphingosine est entaché d'une erreur par défaut.

Nous avons ensuite étudié les constituants plus solubles dans l'alcool froid. Dans les solutions alcooliques, avant l'élimination du cérébroside, les réactions qualitatives des sels biliaires étaient troublées. Maintenant que les fractionnements par l'alcool ont éliminé la presque totalité du cérébroside, les réactions des sels

[1] N. Kent et M. Machebœuf, C. R. Acad. Sci. *225*, 539 (1947); XI^e Congrès international de chimie (17 juillet 1947, Londres); Rev. suisse Bact. Pathol. *10*, 464 (1947).

[1] S. M. Partridge, Nature *158*, 270 (1946).

biliaires sont d'une parfaite netteté (réactions de Pettenkofer, de Urdansky et de Jolies). De plus, le produit est soluble dans l'eau, et sa solution aqueuse mousse fortement. Nous avons séparé les acides biliaires de la solution aqueuse par moussage (technique des mousses essorées[1]), et les résultats furent bien conformes à ce que l'on pouvait attendre d'une solution de sels biliaires. (La teneur en azote du produit purifié par moussage fut 2%.) Nous avons donc bien affaire à des acides biliaires typiques. Ils ne contiennent pas de soufre en quantité décelable, il ne s'agit donc pas d'acide taurocholique. Pour confirmer nos conclusions, nous avons fait étudier leur absorption de la lumière ultra-violette en comparant les spectres à ceux obtenus pour de l'acide glycocholique. Nous remercions Mme Gilmart qui a réalisé les spectres. Les courbes d'absorption sont pratiquement superposables dans la région spectrale comprise entre 1000 et 1100 Å. Mais notre acide n'est pas encore rigoureusement pur, et l'on note une petite bande d'absorption parasite dans la région avoisinant 750 Å. En somme, nous avons bien affaire à un acide biliaire, et il est possible qu'il s'agisse d'acide glycocholique.

Revenons au résidu d'alcoolyse resté insoluble dans l'alcool chaud. Ce résidu est bien un coagulum protéique, car l'hydrolyse acide libère une série d'aminoacides dont l'étude microchromatographique sur papier[2] n'a rien révélé d'anormal[3]. Mais la teneur en azote était seulement 13%. Il devait donc se trouver encore dans le coagulum des impuretés non protéiques que l'alcool chaud n'avait pas enlevées. Nous avons pu identifier ces impuretés, il s'agit de glycogène que l'on peut facilement extraire par de l'eau. Le coagulum lavé à l'eau, puis séché, contient maintenant 15% d'azote, comme il se doit pour une protéine.

Avant l'alcoolyse, la fraction primitive avait été abondamment lavée par de l'eau, et ceci n'avait pas éliminé le glycogène qui part maintenant si facilement après que les protéines aient été coagulées par l'alcool. Ce glycogène avait d'ailleurs précipité avec la fraction par dialyse. Il devait donc ne pas être libre, mais cénapsé avec les protéines.

Voici nos résultats quantitatifs en % de la fraction:

Protéines	Cérébrosides	Glycogène	Acides biliaires
74	10	15	1

Notons que ces chiffres n'ont rien d'absolu. En effet, les cérébrosides tels qu'ils furent pesés ici contenaient encore des sels biliaires dont la séparation est très difficile et ne fut obtenus que par des fractionnements non quantitatifs. Le chiffre de 1% donné pour les sels biliaires est donc trop faible, tandis que celui de 10% donné pour les cérébrosides est trop fort.

Conclusions. Les vers délipidés à basse température par l'alcool absolu et l'éther cèdent ensuite à l'eau distillée des protéines et diverses autres substances. Si l'on soumet la solution à une dialyse prolongée, on voit précipiter une fraction curieuse assez abondante qui n'est plus soluble dans l'eau, même si l'on ajoute du sel. Cette fraction contient: protéines, glycogène, cérébrosides et acides biliaires. Ces constituants ne sont pas indépendants les uns des autres, car 1° le glycogène et les acides biliaires ne se laissent pas extraire par l'eau tant que l'on n'a pas dénaturé les protéines; 2° avant la dialyse, les cérébrosides étaient à l'état dissous dans l'eau qui ne les dissout plus lorsqu'ils sont isolés.

N. Kent et M. Machebœuf,
avec la collaboration de B. Neiadas.

Institut Pasteur, Paris, le 3 mars 1948.

[1] M. Abribat, C. R. Acad. Sci. *209*, 244 (1939).

[2] R. Consden, A. H. Gordon et P. Martin, Biochem. J. *38*, 224 1944).

[3] Les clichés chromatographiques ont été publiés dans la thèse de doctorat de l'un de nous: N. Kent (Neuchâtel 1947).

Summary

The authors have already shown that bile acids existed associated with proteins in some protein fractions isolated from the tapeworm (*Moniezia expansa* of sheep).

The worms are delipidated at very low temperature (−15°C) by absolute alcohol and ether. The dry product is extracted with distilled water. When the solution thus obtained is dialysed for a long time against water (at 0°C) to eliminate the salts and other dialysable substances (such as puric and pyrimidic bases), a peculiar fraction of protein precipitates.

This fraction is no longer soluble in water even after addition of NaCl or at higher p_H. This fraction contains proteins (but only 8,6% nitrogen), glycogen,cerebrosides, and bile acids.

After hydrolysis, the aminoacids were identified using the microchromatographic technique of Consden, Martin, and Gordon (1943).

Glycogen was identified and the quantity of sugar estimated as well as the glucosazone prepared after hydrolysis.

The cerebrosides were hydrolysed by a 10% alcoholic solution of H_2SO_4, the fatty acid esters isolated and estimated. The sphingosine yield was also determined. The microchromatographic method of Partridge was used to identify the sugar in these cerebrosides. Results confirmed the presence of galactose. There is no doubt that the substance associated with the proteins is a cerebroside.

As stated above, the presence of bile acids in tapeworms has been established by the authors for the first time. These acids were estimated by different colorimetric and spectrographic methods.

Über ein Adenosintriphosphorsäure (ATP) spaltendes Enzym der Schlangengifte

Schon lange wurde auf die Ähnlichkeit eines Teils der Vergiftungserscheinungen nach Schlangenbiß mit dem anaphylaktischen Schock hingewiesen. In Übereinstimmung mit der Annahme, daß der letztere durch eine Histaminausschüttung bedingt sei, wurde gefunden, daß zahlreiche Schlangengifte die schlagartige Entleerung der Histamindepots der Säuger veranlassen[1].

Für die Ausbildung verschiedener Schockarten werden in zunehmendem Maß auch andere Reaktionen verantwortlich gemacht, beispielsweise das Verschwinden von ATP[2], die als eine der wichtigsten Energiequellen der Zellen gilt. Im Muskel spielt sie bekanntlich eine zentrale Rolle beim Zustandekommen der Kontraktion. Mit der Annahme eines ATP zerstörenden Enzyms in den Schlangengiften könnte somit die Auslösung von Schock und Muskellähmung als Folgen des Schlangenbisses dem Verständnis nähergebracht werden.

[1] Zusammenfassung: C. H. Kellaway, Animal Poisons, Ann. Rev. Biochem. *8*, 541 (1939).

[2] G. A. LePage, Am. J. Physiol. *147*, 446 (1946).

Methodik: Das aus dem käuflichen Dibariumsalz dargestellte Natriumsalz (0,002—0,007molar) wird in Veronalpuffer gelöst (Gesamtvolumen der Ansätze 0,5 bis 1,0 cm[3]) und mit 0,05 bis 0,5 mg Rohgift bei 38° zehn Minuten lang inkubiert. Die in Freiheit gesetzte Phosphorsäure wird nach dem Verfahren von Berenblum und Chain[1] bestimmt, wobei die angegebene Methode nach mehreren Richtungen hin verändert und zu einer Routinemethode entwickelt wurde. Eine einzelne Bestimmung erfordert 9 Minuten, und ihre Genauigkeit beträgt 1 γ Phosphor. Das mit Stannochlorid aus der Phosphormolybdänsäure erzeugte blaue Reduktionsprodukt wird im Stufenphotometer (Filterschwerpunkt 750 mμ, Schichtdicke 1 mm) gemessen.

Ergebnisse: Die Gifte aller bisher untersuchten Arten (*Bungarus fasciatus, Dendraspis angusticeps, Naia bungarus, Naia melanoleuca; Notechis scutatus, Bitis arietans, Bitis gabonica, Bothrops alternatus, Vipera ammodytes, Vipera aspis, Vipera-aspis*-Varietät aus dem Département du Gers[2]) zerlegen die ATP. Die Reaktion verläuft bis kurz vor der Erschöpfung der ATP mit konstanter Geschwindigkeit. Sie bleibt völlig stille stehen, wenn genau eine Molekel Phosphorsäure pro Molekel ATP in Freiheit gesetzt worden ist. Mit verdünnter Schwefelsäure kann aus dem Reaktionsprodukt in üblicher Weise eine zweite Molekel Phosphorsäure abgespalten werden. Die enzymatisch beeinflußte Reaktion läßt sich somit durch folgende Gleichung darstellen:

Adenosin*tri*phosphorsäure + H_2O = Adenosin*di*phosphorsäure + H_3PO_4.

Schlangengifte sind somit die einzigen der bisher bekanntgewordenen ATP-ase-Quellen, die ohne jede Reinigung und Abtrennung von Begleitfermenten die gebildete Adenosindiphosphorsäure unverändert lassen.

Die ATP-ase-Aktivität der Gifte schwankt von Art zu Art. Die aktivsten Präparate setzen bei einem p_H = 8,4 und in Gegenwart von 0,002molarem Magnesiumsulfat 2000 γ Phosphor pro mg Gift und pro Stunde frei, was der Zerlegung von 33 mg ATP entspricht. Dieser Wert ist sehr viel höher als derjenige aller übrigen ATP-asen des Tier- und Pflanzenreiches[3].

Durch Dialyse wird die Aktivität der ATP-ase der Gifte herabgesetzt. Sie kann durch Kalzium- und Magnesiumionen teilweise wiederhergestellt werden. Magnesium wirkt in dieser Hinsicht stärker und aktiviert auch undialysierte Enzymlösungen. Damit unterscheidet sich die ATP-ase der Schlangengifte von den entsprechenden Enzymen des Säugermuskels und des elektrischen Organs von *Torpedo*[4]:

	Kalziumionen	Magnesiumionen
Myosin-ATP-ase . . .	Aktivierung	Hemmung
ATP-ase des elektrischen Organs. . . .	Hemmung	Aktivierung
ATP-ase der Schlangengifte	Aktivierung	Aktivierung

Die ATP-ase der Schlangengifte ist somit deutlich von ähnlichen Enzymen abzugrenzen, in analoger Weise, wie es früher für die Aminosäureoxydase und die Cholinesterase der Schlangengifte gezeigt wurde[1]. Dem bisherigen Gebrauch entsprechend[1] wird daher das vorliegende Ferment als Ophio-Adenosintriphosphatase bezeichnet.

E. A. Zeller

Pathologisch-anatomische Anstalt der Universität Basel, den 6. April 1948.

Summary

In the venoms of different snake species an enzyme was found which liberates one molecule of phosphoric acid from ATP. The extremely powerful enzyme can be activated by calcium and magnesium ions.

[1] I. Berenblum und E. Chain, Biochem. J. *32*, 295 (1938).

[2] Für die Überlassung der angeführten Giftpräparate schulde ich den Herren Dr. O. Bier (Butantan), Prof. Dr. E. Grasset (Genève), Dr. C. H. Kellaway (London), Prof. Dr. F. Roulet (Basel), Prof. Dr. P. Stern (Zagreb) und Prof. Dr. J. Tréfouel (Paris) meinen besten Dank.

[3] Zusammenfassung: V. A. Engelhardt, Adenosinetriphosphatase Properties of Myosin, Adv. in Enzymol. *6*, 147 (1946).

[4] Zusammenfassung: E. A. Zeller, Enzymes of Snake Venoms and Their Biolog. Signific. Adv. in Enzymol. *8*, 459 (1948) (im Druck). – E. A. Zeller und A. Maritz, Helv. chim. acta *27*, 1888 (1944).

Zum Problem des Stoffwechsels der Brenztraubensäure *in vivo*

II. Mitteilung[1]

Injiziert man Kaninchen in nicht zu langsamem Strom intravenös größere Dosen Alloxan (200—250 mg/kg in 60—100 Sek.) und wartet man mit der Fütterung bzw. mit der subkutanen Glukosezufuhr ab, bis die kritische hypoglykämische Krampfphase erreicht ist (etwa nach 5—7 Stunden), dann entwickelt sich bei den meisten Tieren ein fortschreitender Diabetes mit hochgradiger Hyperglykämie und Glykosurie, an dem sie innerhalb weniger Tage zugrunde gehen. Das Endstadium dieser progressiven Form des Alloxandiabetes ist durch schwere Azidose mit niedriger Alkalireserve und Ketonkörperausscheidung gekennzeichnet; äußerliche Symptome sind Gewichtssturz, allgemeiner Tonusverlust, völlige Inappetenz und Somnolenzneigung. Unter den Säuren, die beim alloxandiabetischen Koma eine Rolle spielen, hat uns speziell die Brenztraubensäure (BTS) beschäftigt, über deren Vermehrung im Blut wir bereits berichtet haben[2].

Als wesentlichen Regulator für die Umsetzung dieser Säure im lebenden Organismus können wir das Vitamin B_1 (= Aneurin) ansprechen. Im Belastungsversuch mit Na-Pyruvat, der zu «exogener Hyperpyruviämie» führt, vermag dieses Vitamin die verzögerte BTS-Beseitigung beim Alloxandiabetes zu normalisieren. Es ergab sich von selbst die Aufgabe, den Einfluß des Aneurins auf die BTS-Verwertung auch bei der progredienten Diabetesform mit gesteigerter «endogener Pyruviämie» zu untersuchen. Wir haben dabei folgende Feststellungen gemacht:

Zu Beginn der Dekompensation des Diabetes mit relativ niedrigen BTS-Werten gelingt es, durch Aneurin allein (5—8 mg/kg) eine Senkung zur Norm zu erreichen. Ist die Azidose ausgesprochener, nimmt die Hyperglykämie zu, dann wird die gleichzeitige Verabreichung von Vitamin B_2 = Laktoflavin (1—2 mg/kg intravenös oder als subkutanes Depot) notwendig, um die BTS-Steigerung akut zu beheben. Wird schließlich der Zustand kritisch, droht das Tier im Koma dem Stoffwechselzusammenbruch zu erliegen, dann wirken die beiden Vitamine nicht mehr. In dieser letzten Phase ist es uns aber wiederholt gelungen, den Komazustand

[1] Ein Teil der Experimente wurde mit Unterstützung der Roche-Studienstiftung durchgeführt.

[2] S. Markees und F. W. Meyer, Exper. *4*, fasc. 1, 31 (1948).

durch Verabreichung von *Cocarboxylase* (5–6 mg/kg i.v.), d.h. von Aneurin in der phosphorylierten Form, zu durchbrechen, wobei wiederum gleichzeitig Laktoflavin gegeben wurde. Unter der Wirkung der Cocarboxylase trat innerhalb von 40–60 Minuten eine ganz erstaunliche Änderung des Zustandsbildes ein. Die Tiere begannen sich wieder zu putzen und zu lecken, liefen umher, fraßen und tranken und waren offensichtlich über die Stoffwechselkrise hinweggebracht. Parallel dazu ließ sich ein sukzessives Absinken der Blut-BTS beobachten. Auf den Blutzucker haben die B-Vitamine ebenso wie die Cocarboxylase keine eindeutige Wirkung gezeigt.

Die Möglichkeit, eine B_1-Wirkung durch Verabreichung des fertigen Coferments noch zu erzielen, wenn das Vitamin selbst nicht mehr zur Wirkung kommen kann, scheint uns von prinzipieller Bedeutung zu sein, da wir daraus schließen dürfen, daß in der dem Komatod vorausgehenden Phase eine Phosphorylierungsstörung mit im Spiele ist. Wir hätten damit eine erste Indikation für die Anwendbarkeit eines Vitamins in der Form des Fermentbestandteils gefunden. Die Ausdehnung solcher Versuche auf weitere Vitamine bei verschiedenen Stoffwechselstörungen liegt auf der Hand und ist bereits in Angriff genommen worden.

Die geschilderten Experimente an Kaninchen mit progressivem Diabetes sind durch die ganz verschiedene und nicht zum voraus bestimmbare Empfindlichkeit und Reaktionsform des Einzelindividuums auf die Alloxanvergiftung sehr erschwert. Neben Blutzucker- und Säurebestimmungen liefert der Grad der Lipämie einen bequem erfaßbaren Anhaltspunkt für die Schwere der Stoffwechselstörung. Im Endzustand ist das Plasma milchigweiß, das Blut eigentümlich himbeer-crèmefarben. Einer geglückten Kompensation der azidotischen Krise geht immer ein Verschwinden der Lipämie parallel. – Im Zusammenhang mit der Aneurinwirkung auf den BTS-Umsatz erhob sich die Frage, wieweit man durch Insulinverabreichung imstande ist, das Fortschreiten des schweren Alloxandiabetes aufzuhalten. Die von uns erreichte Blutzuckersteigerung war in der Regel hoch, die Werte betrugen etwa 72 Stunden nach der Alloxaninjektion zwischen 650 und 900 mg%, es waren aber auch verschiedentlich Anstiege bis auf 1600 und 1900 mg% zu beobachten. Zur Insulinwirksamkeit in diesen diabetischen Zuständen kann folgendes festgestellt werden:

Im Beginn der Endphase in mittlerer Dosis (2 E/kg) gespritzt, vermag Insulin allein die Kompensation zu erreichen. Es kommt zu langsamem Blutzuckerabfall, Wiederauftreten von Freßlust und bei Fortführung der Insulinbehandlung zur Stabilisierung des Blutzuckers auf 250–400 mg% und längerem Überleben der Tiere. Setzt man später mit der ersten Insulingabe ein, d.h. bei Vorliegen einer deutlichen Lipämie, dann ist uns eine Dauerkompensation *nie* gelungen. Auch wenn der Blutzucker mit Senkung reagiert, bleiben die Tiere schwach, die Azidoseneigung besteht weiter und sie gehen an Inanition zugrunde. In dieser Situation läßt sich jedoch wiederum durch Zuhilfenahme der Vitamine B_1 und B_2 die volle Kompensation erreichen, solange die oben beschriebene Phosphorylierungsstörung noch nicht ausgeprägt ist. Liegt sie aber vor, dann kann durch Insulin ein Fortschreiten des Diabetes nur noch verhütet werden, wenn zuvor die akute Überwindung der komatösen Azidosephase durch Cocarboxylase und Laktoflavin gelungen ist. Wir haben bei mehreren Tieren die Rettung aus dem Koma mit dem phosphorylierten Vitamin B_1 und gleichzeitiger Insulinverabreichung durchgeführt und uns von der Unwirksamkeit der zu spät eingesetzten, alleinigen Insulinbehandlung überzeugt.

Unsere Versuche am alloxandiabetischen Kaninchen beweisen das enge Zusammenwirken von Hormon und Vitamin bei der Regulation definierter intermediärer Stoffwechselvorgänge. Sie lassen vermuten, daß eine wesentliche Ursache für den veränderten Ablauf der physiologischen Umsetzungen in dem Unvermögen des azidotischen Organismus liegt, die Phosphorylierungen normal durchzuführen. Es drängt sich die Schlußfolgerung auf, zur Unterstützung der behinderten Wirksamkeit des Insulins bei der diabetischen Stoffwechselkrise das Coferment der Carboxylase zu erproben. Die Zweckmäßigkeit einer unterstützenden B_1- und B_2-Therapie beim dekompensierten Diabetes hat sich tierexperimentell begründen lassen.

S. Markees und F. W. Meyer

Medizinische Universitätspoliklinik Basel und Pharmakologisches Laboratorium der Firma F. Hoffmann-La Roche & Co., AG., Basel, den 19. März 1948.

Summary

In the end-stage of progressive alloxan diabetes of the rabbit we have been able to overcome the acute pyruvic acidosis by the use of phosphorylated vitamin B_1 (cocarboxylase) together with vitamin B_2, while it is impossible to cure the endogen hyperpyruviæmia with simple vitamin B_1. The superiority of the coferment over the vitamin, which is only effective at the beginning of the decompensation, implies the existence of a disturbance in the phosphorylation during the crisis of diabetic metabolism. We have been successful in preventing the inevitable death in coma of diabetic rabbits by doses of cocarboxylase + riboflavin, and we were able to keep them alive by continuous doses of insulin together with vitamin B_1 and B_2.

Über den Angriffspunkt des Morphins am Atmungszentrum

In Erweiterung der grundlegenden Befunde von Marckwald[1], Lumsden[2], u.a. konnte gezeigt werden[3], daß beim Kaninchen im Hirnstamm (speziell im Pons) ein Substrat vorhanden ist, das die exspiratorischen vagalen Atmungsreflexe stark hemmt. Durch *operative* Querdurchtrennung des Hirnstammes in der kaudalen Hälfte des Pons kann der Einfluß dieses hemmenden Substrates weitgehend ausgeschaltet werden. Als Folge davon erscheinen die vagalen Atmungsreflexe bedeutend verstärkt. Andererseits äußert sich auch die Wirkung des Morphins auf die Atmung in erster Linie in einer Verstärkung der exspiratorischen Vagusreflexe. Auf Grund dieser und noch anderer Parallelen wurde die Ansicht geäußert[4], daß zumindest ein Angriffspunkt des Morphins an dem genannten pontinen Hemmungssubstrat gelegen sein dürfte. Morphin sollte demnach dieses Substrat *pharmakologisch* ausschalten können.

Es soll nun versucht werden, diese Ansicht direkt experimentell zu beweisen. Die Idee dazu ist kurz folgende: Den Kaninchen wird der Hirnstamm etwa in der Mitte des Pons operativ quer durchtrennt. Dadurch werden erwartungsgemäß die exspiratorischen Vagusreflexe bereits ein bißchen verstärkt (vgl. Kol. I mit Kol. II in

[1] M. Marckwald, Z. Biol. *23*, 149 (1887); *26*, 259 (1890).

[2] T. Lumsden, J. Physiol. (Brit.) *57*, 153, 354 (1923); *58*, 111 (1923/24).

[3] K. Bucher, Pflügers Arch. *245*, 537 (1942).

[4] K. Bucher, Helv. physiol. et pharmacol. acta 2, 5 (1944).

der Tabelle). Dies zeigt, daß ein kleiner Teil des hemmenden Substrates abgetrennt ist und der Schnitt damit die gewünschte Lage hat. Der Großteil des Substrates nämlich muß jetzt unmittelbar unter der Schnittfläche liegen. Wenn man daher jetzt Morphin lokal auf diese Schnittfläche aufbringt, so wird es zum Teil in den Hirnstamm hineindiffundieren und damit möglicherweise in höherer Konzentration an das Hemmungssubstrat gelangen, als wenn die gleiche Menge Morphin dem Kaninchen auf irgendeinem anderen Wege verabreicht wird. Wenn nun im ersten Falle eine bedeutende Verstärkung der exspiratorischen Vagusreflexe auftritt und im zweiten Falle nicht, so wäre damit der Angriffspunkt am pontinen Hemmungssubstrat bewiesen.

Zu den Versuchen wurden etwa 2,5 kg schwere Kaninchen in Urethannarkose verwendet. Der Hirnstamm wurde ungefähr in der Mitte des Pons durchgeschnitten. In die Schnittwunde wurde ein genau auf die Schnittfläche passendes, genügend starres Stückchen Filtrierpapier eingeschoben und während 20 Minuten dort belassen (Leerkontrolle, Kol. II in der Tabelle). Daraufhin wurde das Filtrierpapier entweder gegen ein anderes ausgewechselt, auf dem vorher 1,5 mg/kg Morphin aufgetrocknet worden war (Gruppe A in der Tabelle). Oder es wurde ein solches morphinisiertes Filtrierpapierchen in eine zweite, genügend kapital von der ersten angelegte Hirnschnittwunde eingeführt (Gruppe B in der Tabelle). Oder die betreffende Menge Morphin wurde direkt als Lösung intraperitonäal injiziert (Gruppe C in der Tabelle). Die Stärke der exspiratorischen Vagusreflexe wurde geprüft, indem den Tieren von Zeit zu Zeit die Trachea in dem Moment verschlossen wurde, als sie exspirieren wollten. Die so behinderten Exspirationen dauern länger als die normalen Exspirationen. Diese verlängerten Exspirationen sind ein Maß für die hier zur Diskussion stehenden exspiratorischen Vagusreflexe.

Dauer der Verschlußexspiration (siehe Text) in Sekunden (Mittelwerte). I vor Ponsschnitt, II 20 Min. nach dem Schnitt, III 20 Min. nach Applikation des Morphins.

Gruppen	Anzahl Tiere	Vor Ponsschnitt I	Nach Ponsschnitt	
			II Leerkontrolle	III Nach Morphin
A. Mo lokal am Hemmungssubstrat. .	15	2,5	4,0	>22,6*
B. Mo in indifferenten Hirnpartien .	10	2,0	2,6	3,0
C. Mo intraperitonäal	6	2,0	2,2	2,6

* Um die Tiere möglichst nicht zu schädigen, wurde die Trachea immer spätestens nach 30 Sekunden wieder geöffnet, auch wenn die betr. Exspiration noch nicht zu Ende war. Dies war bei 7 von 15 Tieren der Fall.

Die obenstehende Tabelle gibt einige Werte aus den entsprechenden Versuchsreihen[1] wieder. Es ergibt sich eindeutig, daß Morphin die exspiratorischen Vagusreflexe bedeutend verstärkt (A), wenn es direkt auf das pontine Hemmungssubstrat aufgebracht wird. Die gleiche Morphinmenge (B) oder sogar eine wahrscheinlich deutlich größere Morphinmenge (C, bessere Resorption), dem Organismus von anderen Stellen zugeführt, ist hingegen wirkungslos. Man muß daraus folgern, daß der Angriffspunkt für diese Morphinwirkung tatsächlich im exspiratorischen vagalen Hemmungssubstrat des Pons gelegen ist.

J. Fischlewitz und K. Bucher

Pharmakologisches Institut der Universität Basel, den 9. April 1948.

[1] Die Arbeit erscheint *in extenso* in Helv. physiol. et pharmacol. Acta.

Summary

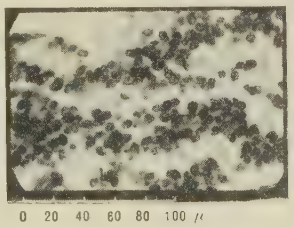
Significant evidence has been given that morphine increases the expiratory vagal reflexes by blocking the respiratory system in the pons, which normally inhibits these reflexes.

Hautwucherungen mit basophil granulierten Zellen beim Hund

Während fünf Jahren kamen etwa ein Dutzend Fälle eigenartiger Wucherungsknoten von Hunden verschiedener Rassen und ungleichen Alters zur Untersuchung. Nach langsamem Wachstum waren sie an verschiedenen Körperstellen aus der Haut exzidiert worden. Zweimal traten Rezidive und einmal eine Lymphknotenmetastase auf.

Makroskopischer Befund. Unscharf begrenzte, nuß- bis eigroße Knoten, Oberfläche meist etwas ulzeriert, fest, weich oder derb. Schnittfläche ziemlich feucht, weißlichglasig, oft mit kleinen trüben oder geröteten Bezirken.

Mikroskopischer Befund. In einem mehr oder weniger reifen, meist aber ziemlich massiven fibrösen Stroma eingebettet, liegen auffallende, oft sehr dichte Nester von Zellen mit einem Durchmesser von 10—15 μ. Sie sind rundlich oder eckig gegeneinander abgepaßt, auch plump unregelmäßig spindelig. Sie enthalten spärlich oder sehr reichlich basophil metachromatische Granula. Der Kern liegt zentral, ist rundlich, ovoid, gelegentlich nierenförmig, bläschenförmig, eher chromatinarm, mit ein oder zwei etwas gröberen Chromatinbrocken, zeigt aber nicht die Radkernstruktur. Die Kerngröße beträgt etwa den halben Zelldurchmesser. Zwischen diesen Zellen liegen (nicht überall) spärlich oder reichlich polymorphkernige Infiltrate, stellenweise sogar ziemlich dicht. Auch Eosinophile können auftreten. Ferner werden hyperämische Gebiete oder kleine Blutungen, seltener katabiotische Herdchen beobachtet. Im ganzen besteht ein Mißverhältnis zwischen den regressiven und entzündlichen Prozessen einerseits und der fibrös-granulazelligen Wucherung andererseits, da die letztere in großen Bezirken das Bild beherrscht (Abbildung).



Es ist zu fragen, ob es sich hier um eine chronisch entzündliche Wucherung handelt, wobei die massive Einlagerung der basophil granulierten Zellen bemerkenswert wäre. Weiter kommt ein *Blastom* mit basophil granulierten Zellen in Frage, wie es von Bloom und seinen Mitarbeitern[1] beschrieben wurde. Es wäre dann abzu-

[1] F. Bloom, Arch. Path. *33*, 661 (1942). – J. Oliver, F. Bloom und C. Mangieri, J. Exp. Med. *86*, 107 (1947).

klären, ob am primären Blastom sekundär die entzündlichen Prozesse auftraten oder ob das Blastom auf entzündlicher Grundlage entstanden ist. Ein eingehendes Studium des Materials durch einen Mitarbeiter soll sich mit diesen Fragen befassen. H. Hauser

Veterinär-pathologisches Institut der Universität Bern, den 17. Februar 1948.

Summary

Within a period of five years a dozen cases of cutaneous nodular growths were observed in dogs of varying age and breed. They consist of agglomerations of cells with a basophil granulation in a stroma of inflammatory connective tissue.

DISPUTANDA

Some Remarks on the Aglucosuric Blood Sugar Concentration

A recent note in this journal by M. Földi, G. Szabó, and S. Zsoldos[1] appears to call for some discussion.

Let us first reconsider the meaning of the aglucosuric blood sugar concentration and its mathematical derivation. Using the same notations as Földi *et al.*, viz.

Ag = aglucosuric blood sugar concentration mg%
Pg = actual blood sugar concentration mg%
Rg = reabsorbed glucose mg/min
Fg = filtered glucose mg/min
P = plasma creatinine or insulin concentration mg%
U = urinary creatinine or insulin concentration mg%
Ug = urinary glucose concentration mg%

and introducing

F = rate of glomerular filtration cm³/min
R = rate of tubular resorption cm³/min

we get

$$\frac{F \cdot Pg}{100} = Rg\,, \qquad (1)$$

as long as $Rg < Tm_g$[2], where Tm_g = maximal quantity of glucose that can be reabsorbed per unit time. If we increase Pg—by means of glucose infusion—Rg reaches Tm_g and, by definition, the limiting value of Pg, without glucose in the urine, is Ag. Thus

$$Ag = \frac{100 \cdot Tm_g}{F}\,. \qquad (2)$$

A further increase in Pg will bring about the excretion of glucose in the urine, the reabsorption of glucose being fixed at Tm_g. Now, evidently

$$Fg = \frac{F \cdot Pg}{100} - \frac{(F - R) \cdot Ug}{100} + Tm_g\,. \qquad (3)$$

Assuming that F remains constant, if we increase Pg—which assumption is fairly well-supported by Shannon and Fisher's data—we can calculate Ag without knowing the actual value of Tm_g and F. Expressing Tm_g from (3) and putting it into

$$Ag = Pg - \frac{P}{U} \cdot Ug, \text{ since } \frac{F - R}{F} = \frac{P}{U}\,. \qquad (4)$$

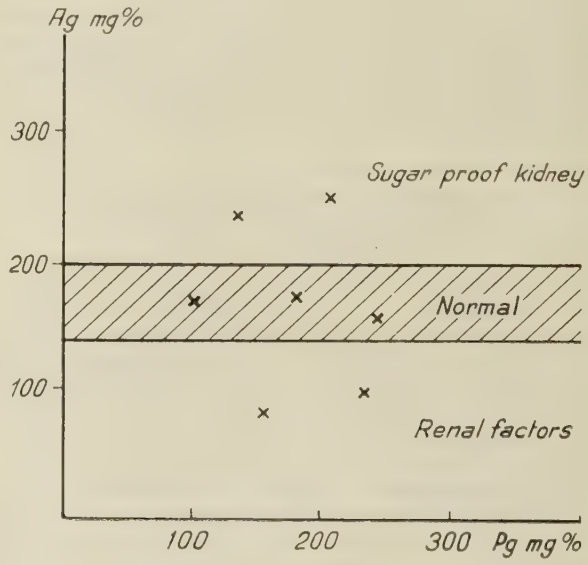
Clearly, with the assumptions made, Ag is a constant for any given individual, depending only on Tm_g and F, but can be, as we see, calculated from Pg, Ug, and P/U.

Now it will appear that Ag, a constant, is *not* a function of Pg, as stated by Földi *et al.*—not at least in the same individual. It is one thing to calculate a constant from a formula, and quite another thing to say that the constant actually is a function of some other observable value. E.g. we may calculate the boiling point—a constant—of a liquid from its behaviour at two given temperatures, but we cannot say that the boiling point is a function of these actual temperatures.

The above expression of Ag (4) only has a meaning if $Ug > 0$. Hence it follows that we cannot calculate the aglucosuric blood sugar level of a normal person without actually producing glucosuria. Once Pg has exceeded Ag, the calculated values of Ag should be constant for any Pg value. It may be mentioned that I have calculated Ag, using formula (4), from the data in Shannon and Fisher's[1] paper. For values of Pg ranging 238—1,410 mg% Ag is constant and has the value 232·2 ± 2·9 mg% (dog experiment).

It is difficult to see what meaning should be ascribed to curve 1 in the note by Földi *et al.* (actually the ordinate should be Ag instead of Rg, as printed).

Are we to assume that the points on the ascending part of the graph are points calculated with $Ug = 0$, and that the true value for Ag is represented by the points lying on the horizontal part of the graph? If so, we have, roughly, $Ag = 350$ mg%. However it is generally known[2] that for human normals Ag lies between 140—200 mg%, the mean value being 180 mg%. This points either to errors in the technique or to the particular case presented in the figure, being one with a very high glucose threshold.



If, on the other hand, points lying on the ascending part of the graph do correspond to values $Ug > 0$, then, it seems, the results disprove the very theory—that of Shannon's—upon which the whole work is based. Since $Ag = \frac{100 \cdot Tm_g}{F}$, Ag could increase only if Tm_g were increasing, or F decreasing. But if either Tm_g or F were not constants, $Pg - \frac{P}{U} Ug$ in (4) would have no actual meaning and could not be considered as an expression for Ag. That is, if Ag calculated from (4) increases with increasing Pg, it is evident that the assumptions—

[1] M. Földi, G. Szabó, and S. Zsoldos, Exper. *3*, 329 (1947).
[2] I. A. Shannon and S. Fisher, Am. J. Physiol. *122*, 765 (1938).

[1] I. A. Shannon and S. Fisher, l. c. p. 767.
[2] C. E. Dukes, Urine examination and clinical interpretation (Oxford Univ. Press, 1939), p. 131. – W. C. Lovatt-Evans, Principles of human physiology (London, Churchill, 1945), p. 927.

constant Tm_g and F—are not fulfilled. SHANNON's conclusions and the data represented by Fig. 1 of FÖLDI *et al.* are thus seen to be incompatible.

If we accept the former it will be clear that to speak of a correlation between Pg and Ag, in the same individual, since Ag is a constant, is meaningless (although there may be a correlation between these quantities, i.e. the normal Pg and Ag, determined in a sugar-infusion experiment, considering several members of a population).

If one wishes to plot Ag against Pg (see figure), the values of Ag will be distributed about the value 180 mg% in the range 140—200 mg%[1,2]. Points lying below this zone indicate a lower tubular reabsorption (phlorizin type), points above the zone indicate a "sugar-proof kidney"[3].

In a diabetic patient with glucosuria Ag can be determined forthwith, without glucose infusion, and again, values between 140—200 mg% should be considered as normal, while values outside this range point to a case complicated by renal factors or to a sugar-proof kidney.

J. GERGELY

Department of Biochemistry, University of Budapest, and Department of Physical Chemistry, University fo Leeds, January 9, 1948.

Zusammenfassung

Zu einer kürzlich erschienenen Arbeit von FÖLDI und Mitarbeitern wird folgendes festgestellt: Ihre «aglykosurische Blutzuckerkonzentration» (Ag=die höchste Blutzuckerkonzentration, bei der eben noch kein Zucker im Harn erscheint), ist bei ein und derselben Person eine vom momentanen Blutzuckerwert unabhängige Größe, obwohl in der Formel für Ag die Blutzuckerkonzentration (Pg) vorkommt. Die Formel für Ag ist nur für $Pg > Ag$ definiert. Wenn man Ag bei verschiedenen Personen bestimmt und die Ergebnisse in ein Koordinatensystem (Abszisse Pg, Ordinate Ag) einträgt, dann fallen die Punkte, die einer normalen Nierentätigkeit entsprechen, in einen mit der Abszisse parallelen Streifen. Dieser liegt im Bereiche der physiologischen Werte der Nierenzuckerschwelle. Punkte unterhalb dieses Streifens deuten auf eine vergrößerte, Punkte oberhalb des Streifens auf eine verminderte «Zuckerdurchlässigkeit» der Nieren hin. Mit den vorliegenden kritischen Bemerkungen soll nicht bestritten werden, daß es – wie das FÖLDI und Mitarbeiter betont haben – klinisch bedeutsam ist, die durch Nierenfaktoren komplizierten Diabetesfälle zu erkennen.

[1] C. E. DUKES, l. c. – W. C. LOVATT-EVANS, l. c.

[2] According to SMITH (H. W. SMITH, Lectures on the Kidney [Kansas, 1943], p. 36) Ag = 256 mg%. Using his data (pp. 89–91) one obtains by our formula (2) values of Ag ranging from 189–330 mg% with a mean of 258 mg%. It is somewhat puzzling that these values are definitely higher than the standard text-book value of the renal glucose threshold. The essence of our argument is of course unaffected by the choice of the range of normal Ag values; this determines only the position and width of the marked zone in the figure.

[3] M. FÖLDI, G. SZABÓ, and S. ZSOLDOS, l. c.

PRO LABORATORIO

Microburetta di precisione senza rubinetti

Le comuni microburette graduate in mm³ sono tutte praticamente inservibili per un lavoro accurato e spedito in quanto il lubrificante dei loro rubinetti ne sporca inesorabilmente il capillare graduato. Per questo motivo la microburetta qui raffigurata è stata ideata senza rubinetti. Essa funziona a mercurio ed è graduata di 0,5 in 0,5 fino a 110 mm³. Un capillare ad U con un po' di mercurio, una bolla ed una graduazione ausiliaria sostituisce il rubinetto e consente il riempimento. La graduazione ausiliaria permette la correzione quantitativa di even-

tuali spostamenti della chiusura a manometro durante la titolazione; la bolla serve a trattenerne il mercurio durante il riempimento. Uno stantuffo facilmente amovibile imprime con un movimento a vite spostamenti finemente graduabili alla colonna di mercurio. È possibile misurare soluzioni *indifferenti di fronte al mercurio* fino al decimo di mm³ approssimato. Le interpolazioni si fanno coll'aiuto di una lente.

La buretta viene costruita dalla ditta Ing. G. Terzano, Milano.

E. SARTORI

Clinica Pediatrica dell'Università di Pavia, il 10 novembre 1947.

Zusammenfassung

Es wird eine neue Präzisionsmikrobürette beschrieben, die es gestattet, Lösungen, die gegenüber Quecksilber indifferent sind, bis auf ungefähr $^1/_{10}$ mm³ zu messen. Im Gegensatz zu den bisher üblichen Mikrobüretten hat sie keine Hahnen und verfettet daher nicht.

Nouveaux livres - Buchbesprechungen - Recensioni - Reviews

Zum Wasserhaushalt des Schweizer Hochgebirges

Von O. Lütschg-Loetscher

Beiträge zur Geologie der Schweiz – Geotechnische Serie – Hydrologie, 4. Lieferung (Kommissionsverlag: Geographischer Kartenverlag Kümmerly & Frey, Bern).

I. Band, 1. Teil, erste Abteilung, Kapitel 1–3 (Mitarbeiter Rudolf Bohner): Heutiger Stand der Niederschlagsforschung. Heutiger Stand der Abflußforschung. Zusammenhänge zwischen Niederschlag und Abfluß. mit Tabellenwerk: Ergebnisse der Niederschlagsforschungen. 60 Seiten mit 9 Karten, 10 Textfiguren, 17 Tabellen (1945) (Fr. 10.—).

I. Band, 1. Teil, zweite Abteilung (Kapitel 4 u. 5): Vorratsänderungen im Wasserhaushalt der Gletscher. Verhalten des vorstoßenden Obern Grindelwaldgletschers. 41 Seiten, mit 10 Tafeln, 21 Figuren und 6 Tabellen, (1944) (Fr. 6.—).

II. Band, 3. Teil. (Mit Beiträgen von Rudolf Bohner und Walter Dietz.) Zur Hydrologie der Landschaft Davos. 490 Seiten, mit 2 Karten, 9 Tafeln, 146 Textfiguren, 173 Tabellen (1944) (Fr. 50.—).

Über die Verdunstungsgröße freier Wasserflächen im Schweizer Hochgebirge. (Mitarbeiter Rudolf Bohner, Gottfr. Urben und E. Hoeck.) 54 Seiten, mit 25 Textfiguren und 42 Tabellen. Denkschriften der Schweizerischen Naturforschenden Gesellschaft, Bd. LXXVI, Abh. 2 (Kommissionsverlag Gebr. Fretz AG., Zürich 1946).

Beitrag zur Kenntnis des Wärmehaushaltes der obersten Bodenschicht der Schweizer Alpen. 85 Seiten, mit 11 Tafeln, 19 Textfiguren, 35 Tabellen. Denkschriften der Schweizerischen Naturforschenden Gesellschaft, Bd. LXXVII, Abh. 2 (Kommissionsverlag Gebr. Fretz AG., Zürich 1947).

In diesen Abhandlungen hat der am 22. Juli 1947 im 75. Lebensjahre verstorbene Verfasser Dr. phil. h. c. Otto Lütschg-Loetscher den größten Teil der Ergebnisse seiner Lebensarbeit zusammenfassend dargestellt. Die Arbeit stützt sich im wesentlichen auf eigene Untersuchungen, so daß die zum Ausdruck kommende persönliche Erfahrung dem ganzen Werk ein besonderes Gepräge gibt. Einige der vorgesehenen Abschnitte des Gesamtwerkes sind leider noch nicht publiziert, nämlich die Kapitel 6—12 des ersten Teils, in welchen verschiedene allgemeine Probleme behandelt werden sollen, ferner der den Forschungsarbeiten in vierzehn engeren Forschungsgebieten gewidmete zweite Teil und schließlich der vierte Teil, für welchen die Schlußfolgerungen und ein Sachregister in Aussicht gestellt wurden. Wir wollen hoffen, daß auch das in diesen Abschnitten enthaltene Material bald der Wissenschaft dienstbar gemacht werden kann. Die beiden in den Denkschriften der Schweizerischen Naturforschenden Gesellschaft erschienenen Studien sind als in sich geschlossene Bestandteile des Werkes «Zum Wasserhaushalt des Schweizerischen Hochgebirges» aufzufassen.

Der Autor, welcher eine glühende Liebe zur heimatlichen Bergwelt hegte, hatte bereits als junger Ingenieur begonnen, den Wasserhaushalt des Schweizerischen Hochgebirges zu studieren. Dank einer engen Fühlungsnahme mit Vertretern aller Nachbardisziplinen, vor allem der Hydrologie, der Geologie, der Bodenkunde, der Meteorologie und der Botanik, gelang es ihm, im Laufe seines Lebens einen umfassenden Überblick über die Materie zu gewinnen. Lütschg ist bei seinen Arbeiten ungeachtet der Forderungen der Wirtschaft konsequent seine eigenen Wege gegangen. Sein Grundsatz war, daß die Gewässerkunde, wie die Wissenschaft überhaupt, unter keinen Umständen bewußt der Wirtschaft dienen dürfe; damit hat er aber nicht nur der Wissenschaft, sondern vor allem auch der Wirtschaft den allergrößten Dienst geleistet. Seine Forschungsergebnisse sind zu einer der wichtigsten Grundlagen der wasserwirtschaftlichen Planung in der Schweiz geworden und jeder mit hydrologischen, meteorologischen und biologischen Problemen im Hochgebirge beschäftigte Naturforscher wird seine Ausführungen mit hohem Gewinn zu Rate ziehen. Die Bedeutung des Werkes liegt deshalb nicht allein in der von großer Sachkenntnis zeugenden Darstellung der Materie, sondern auch darin, daß der Verfasser einen Weg zu einer ersprießlichen Zusammenarbeit zwischen Technik und Wissenschaft gewiesen hat. Das Kernstück des weitschichtigen Arbeitskreises der Gewässerkunde bildet die planmäßige Aufstellung der Wasserbilanz von Flußgebieten, was vor allem eine vollständige Klarstellung der Beziehungen zwischen Niederschlag und Abfluß erfordert. Ein Teil der Niederschläge, die auf die Erdoberfläche fallen, verdunstet, ein anderer Teil versickert und der Restteil fließt oberirdisch ab. So ungleich die Wege sind, die die einzelnen Wassermengen beschreiten, bis sie getrennt oder vereint, geschwächt oder gestärkt, ein bestimmtes Gebiet verlassen, so mannigfaltig sind auch die sich dem Hydrologen stellenden Probleme. Die Aufstellung der Wasserbilanz eines Flußgebietes ist deshalb mit erheblichen Schwierigkeiten verbunden. Die Lösung dieser Frage verlangt eine Trennung in eine ganze Reihe von Einzelaufgaben.

Unumgänglich notwendig für die Erkenntnis des hydrologischen Gesamtcharakters eines Flußgebietes ist im vielgestaltigen Hochgebirge vor allem das Bestehen eines engmaschigen Netzes von zuverlässig arbeitenden Niederschlagsmessern. Die die Niederschlagsmenge beeinflussenden Faktoren sind so verschiedenartig, daß der Autor Bezugslinien zwischen Niederschlag und Höhenlage ablehnt. Das vorhandene Stationennetz reicht aus diesem Grunde bei weitem nicht aus, um zum Beispiel eine Niederschlagskarte der Schweizer Alpen konstruieren zu können. Auch an die Genauigkeit der Messung der Abflußmengen sind hohe Anforderungen zu stellen. Besondere Aufmerksamkeit erfordern der unterirdische Wasserabfluß und Wasserzufluß nach bzw. von gebietsfremden Arealen. Die Methoden zur Erforschung von Niederschlag und Abfluß werden vom Verfasser eingehend in kritischer Weise dargestellt.

Große Sorgfalt wurde auch dem Gletscherphänomen zugewendet. Auf Grund photogrammetrischer Vermessungen der Linien gleicher Höhenänderung der Oberfläche von vier Gletschern konnte ein vollständiges Bild über die Beträge von Rücklagen und des Aufbrauchs früherer Rücklagen in vergletscherten Gebieten gewonnen werden. Dank der letzten kurzen Vorstoßperiode (1918—24) gelang es ferner, durch Beobachtungen am Oberen Grindelwaldgletscher im Berner Oberland die Erosionswirkung eines Gletschers zahlenmäßig festzulegen. Die Darstellung der Verhältnisse in diesen vergletscherten Landschaften wird durch ein reichhaltiges Bildmaterial in anschaulicher Weise ergänzt.

Im Rahmen der Erforschung des Wasserhaushaltes mußte der Verdunstung eine besonders sorgfältige Aufmerksamkeit geschenkt werden, einem Problem, mit dem sich seit den ersten Experimenten Horace Benedict de Saussures schon viele Forscher im schweizerischen Hochgebirge beschäftigt hatten. Die Ergebnisse der Messungen der Verdunstungsgröße freier Wasserflächen sind durch ein umfangreiches, in Tabellen übersichtlich angeordnetes Zahlenmaterial belegt. Die bis-

herigen Forschungen lassen den Schluß zu, daß die Verdunstung grundsätzlich als ein Wärmeproblem zu betrachten ist, das aber durch viele Einflüsse Förderung oder Hemmung erfahren kann.

In der Verdunstung freier Wasserflächen kommt die klimatische Verdunstungskraft zum Ausdruck. Davon ist die Landverdunstung scharf zu trennen. Grundbedingung für diese ist die Bodenfeuchtigkeit, ausschlaggebend für ihre Größe aber vor allem die Zeitdauer der Bodenfeuchtigkeit. Der Autor hat in allgemeiner Weise die Zusammenhänge zwischen den einzelnen Faktoren klargelegt, die die Verdunstung im Wasserhaushalt des Hochgebirges bedingen. Sofern es sich um Gebiete ohne Gletscher handelt, entspricht die Differenz zwischen Niederschlag und Abfluß im langjährigen Mittelwert der Größe der mittleren Landverdunstung. Bei der Berechnung des Wasserhaushaltes in Einzeljahren sind dagegen die Rücklagen und der Aufbrauch früherer Rücklagen zu berücksichtigen. Werden auf diese Weise berechnete Verdunstungswerte in Beziehung zur mittleren Höhenlage des Forschungsgebietes gebracht, so ergibt sich eindeutig, daß die Gebietsverdunstung mit zunehmender Höhenlage der Landschaft abnimmt.

In der Frage der Landverdunstung fällt dem Mikroklima in seiner Abhängigkeit von der Vegetation eine ausschlaggebende Bedeutung zu. In diesen Problemkreis gehören die Untersuchungen über den Wärmehaushalt der oberen Bodenschichten, wobei die Vorgänge des Strahlungsumsatzes im Bereich der Bodenoberfläche, des Wärmeumsatzes im Boden, der Wärmeabgabe des Bodens an die Luft, die Wärmeaufnahme desselben von der Luft und der Aufnahme der durch Verdunstung verbrauchten oder durch Kondensation gewonnenen Wärmemengen auseinanderzuhalten sind. Durch Bestimmungen der Sonnen- und Globalstrahlung in Les Avants ob Montreux wurde der Zusammenhang zwischen Strahlung und Bodentemperatur abgeklärt und die Wirkung der Sonnenstrahlung auf die Schmelztätigkeit des Schnees untersucht. Auch diese Forschungsergebnisse sind durch ein großes Zahlenmaterial belegt.

Eine eigentliche Monographie des Wasserhaushaltes hat der Autor für die Landschaft Davos gegeben. Diese Gegend, welche seit langer Zeit ein begehrtes Objekt wissenschaftlicher Forschung ist, bietet für eine hydrologische Studie dank ihrer betonten Eigenart, ihrem Reichtum an Erscheinungen, ihrer Abgeschlossenheit und ihrer leichten Zugänglichkeit geradezu ideale Verhältnisse. Die Darstellung zeigt vor allem in drastischer Weise, wie sich die künstlichen Eingriffe des Menschen auf die Natur dieses Gebietes ausgewirkt haben und welche schwierige Aufgabe es für den Verfasser war, wegen des dadurch gestörten Gleichgewichtes den ursprünglichen Zustand auch nur gedanklich zu rekonstruieren. Sie bringt den Beweis dafür, wie notwendig es ist, vor Inangriffnahme natureinschneidender Kulturbauten die früheren Zustände zahlenmäßig festzuhalten und daß jede Umwandlung eines Naturgebietes in eine Kulturlandschaft ein sehr bedeutendes hydrographisches Geschehnis darstellt. Wenn die Lösung der gestellten Aufgabe dem Verfasser trotz ihrer Schwierigkeit gelungen ist, so ist dies nur dem Umstand zu verdanken, daß er alle maßgebenden Gesichtspunkte gebührend berücksichtigt und ein umfangreiches Beobachtungsmaterial über die geologischen Verhältnisse, die Klimatographie, die Hydrologie der unterirdischen und oberirdischen Gewässer und die künstlichen Eingriffe des Menschen in den Wasserhaushalt gesammelt und kritisch gesichtet hat. Die Grundwasserverhältnisse von Davos werden im Rahmen des Gesamtwerkes von Walter Dietz beschrieben, wobei vor allem die Einwirkung der künstlichen Absenkung des Davosersees auf das Grundwasser festgestellt wird. Eines der schwierigsten Teilprobleme bei der Ermittlung des Wasserhaushaltes einer Hochgebirgslandschaft ist die zahlenmäßige Bestimmung der Grundwassermengen; sie muß wohl für das Davoser Gebiet als einzige nicht ganz befriedigend gelöste Aufgabe betrachtet werden. Direkte Bestimmungen sind mit einem derart großen Arbeits- und Kostenaufwand verbunden, daß es verständlich erscheint, wenn Lütschg den Vorschlag einer indirekten Bestimmung auf Grund der Beziehungen zwischen Niederschlag, Abfluß und Verdunstung macht. Der allgemeinen Anwendung dieser Methode steht jedoch der Umstand entgegen, daß wir nur für eine sehr beschränkte Zahl von Gebieten so ausgebaute Niederschlagsstationsnetze besitzen, daß sie den Anforderungen, die für die Lösung solcher Probleme gestellt werden müssen, zu genügen vermögen. Eine umfassende Erweiterung des Niederschlagsstationsnetzes ist auch aus diesem Grunde die unumgängliche Voraussetzung zum Erkennen des Gesamtwasserhaushaltes der Schweizer Alpen. Wir verdanken es den Forschungen des Verfassers, daß wir heute wenigstens über die Niederschlagsverhältnisse einiger ausgewählter Flußgebiete genau orientiert sind. Das Tabellenwerk, welches sämtliche Ergebnisse der langen Niederschlagsforschungen in den Naturlaboratorien, wie der Verfasser seine Untersuchungsgebiete zu nennen pflegt, in sich schließt, enthält deshalb ein sowohl für die Wissenschaft als auch die Wirtschaft wertvolles Material.

Die Schriften Lütschgs füllen als Standardwerk über die gegenwärtigen Kenntnisse des Wasserhaushaltes der Schweizer Alpen eine schon lange bestehende Lücke aus. Es wird allen weiteren Forschungen auf diesem Gebiete als Grundlage dienen müssen. Die Darstellung der Hydrologie der Landschaft von Davos kann als Vorbild für die hydrologische Bearbeitung weiterer Einzelgebiete dienen.

H. Schmassmann

Fatty Acids, their Chemistry and Physical Properties

By Klare S. Markley. 668 pp., 81 figures.

(Interscience Publishers, Inc., New York, 1947) ($10.00)

In den letzten Jahren sind mehrere wertvolle Monographien erschienen, die über den gegenwärtigen Stand der Forschung auf den Gebieten der Chemie, der Biochemie oder der Technik der Fette unterrichten. Ihnen reiht sich die vorliegende Darstellung an, die der Chemie und den physikalischen Eigenschaften der Fett*säuren* gewidmet ist. In erster Linie werden die höheren Fettsäuren berücksichtigt und soweit es der Zusammenhang erfordert, auch die niederen. Die Stoffeinteilung ergibt sich aus den Kapitelüberschriften: Natur und Geschichte der Fette und Wachse — Klassifizierung und Struktur der Fettsäuren — Physikalische Eigenschaften der Fettsäuren — Chemische Reaktionen der Fettsäuren — Synthese der Fettsäuren — Isolierung und Identifizierung der Fettsäuren. Die chemischen Reaktionen, die mit den Fettsäuren durchgeführt worden sind, werden besonders ausführlich behandelt, ebenso die Eigenschaften der dabei erhaltenen Fettsäurederivate, von denen manche bekanntlich eine große industrielle Bedeutung besitzen. Quantitative Angaben über das physikalische und chemische Verhalten der Fettsäuren und ihrer Derivate sind in zahlreichen Tabellen und Diagrammen übersichtlich zusammengefaßt. Kurze Abschnitte über die biologische

Oxydation und über die Biosynthese der Fettsäuren orientieren über das Wesentlichste. Methoden finden eine zum Teil eingehende Berücksichtigung.

Das Buch gibt einen umfassenden Überblick über die dem Nichtspezialisten häufig schwer zugängliche Literatur, es ist in einer leicht lesbaren Art geschrieben und kann deshalb sowohl als Nachschlagewerk als auch als Lehrbuch empfohlen werden.

H. Süllmann

Livres reçus - Eingegangene Bücher
Libri pervenutici - Books received

Introduction to Theoretical Physics, by L. Page (D. Van Nostrand Co., Inc., New York, 1947, 2nd edition) ($7.00, 36/–).

Nuclear Physics in Photographs, by C. F. Powell and G. P. S. Occhialini (Clarendon Press, Oxford, 1947)(18/–).

Electromagnetism, by J. C. Slater and N. H. Frank (McGraw-Hill Publishing Co., Ltd., New York and London, 1947) (17/6).

Paramagnetic Relaxation, by C. J. Gorter (Elsevier Publishing Co., Inc., Amsterdam, 1947) (fl. 6.00).

Physical Chemistry, by E. D. Eastman and G. K. Rollefson (McGraw-Hill Publishing Co., Ltd., New York and London, 1947)(22/6).

Time and Thermodynamics, by A. R. Ubbelohde (Oxford University Press, London, 1947) (107 pp.).

Elementary Engineering Thermodynamics, by V. W. Young and G. A. Young (McGraw-Hill Publishing Co., Ltd., New York and London, 1947) (15/–).

Surface Chemistry for Industrial Research, by J. J. Bikerman (Academic Press, Inc., New York, 1947) ($8.00).

Allgemeine und anorganische Chemie. Eine Einführung für Laboranten, von H. R. Bolliger (Verlag B. Wepf & Co., Basel 1948) (Fr. 16.—).

Chemical Architecture, by R. E. Burk and O. Grummitt (Interscience Publishers, Inc., New York, 1948) ($4.50).

Chemical Engineering Fundamentals, by C. G. Kirkbridge (McGraw-Hill Publishing Co., New York and London, 1947) (25/–).

Encyclopedia of Chemical Technology, edited by R. E. Kirk and D. F. Othmer (Interscience Publishers, Inc., New York, 1947) ($20.00).

Atomenergie und ihre Verwertung im Kriege, von H. De Wolf Smyth (Ernst Reinhard Verlag AG., Basel 1947) (353 pp.).

Studies and Essays, presented to R. Courant (Interscience Publishers, Inc., New York, 1948) ($5.50).

Technology of Synthetic Polymers, by R. Houwink (Elsevier Publishing Co., Inc., Amsterdam, 1947) (fl. 10.60).

The Science of Plastics, edited by H. Mark and E. S. Proskauer. A Comprehensive Source Book based on the Original Literature from 1942–46, Vol. I (Interscience Publishers, Inc., New York, 1948) ($9.00).

The Technology of Plastics and Resins, by J. P. Mason and J. F. Manning (D. Van Nostrand Co., New York, 1947) ($5.50, 36/–).

Symposium on Plasticizers, reprinted from Journal of Polymer Science, Vol. II, No. 2 (Interscience Publishers, Inc., New York, 1947) ($1.75).

Plastics, Theory and Practice (The Technology of High Polymers), by C. C. Winding and R. L. Hasche (McGraw-Hill Publishing Co., London and New York, 1947) (17/6).

The Formation of the Continents by Convection, by G. F. S. Hills (Edward Arnold & Co., London, 1947) (7/6).

Einführung in die Geologie der Umgebung von Basel, in 12 Exkursionen, von P. Vosseler (Verlag Helbing & Lichtenhahn, Basel 1947) (110 pp.).

Microorganismes de nos eaux douces, par C. de Wyngaert (F. Rouge & Cie., Lausanne 1947) (162 pp.).

The Genetics of Garden Plants, by M. B. Crane and W. J. C. Lawrence (Macmillan & Co., Ltd., London, 1947) (16/–).

Botany of the Living Plant, by F. O. Bower (Macmillan & Co., Ltd , London, 1947) (36/–).

Factors in Botanical Publication, by N. E. Stevens (Chronica Botanica Co., Waltham, Mass., U.S.A., 1947) ($2.00).

The Arboretums and Botanical Gardens of North America (Chronica Botanica Co., Waltham, Mass., U.S.A., 1947) ($1.50).

Neuere Probleme der Abstammungslehre, von B. Rensch (Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart 1947) (geheftet RM. 26.20, gebunden RM. 28.—).

Nucleic Acids and Nucleoproteins. Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology, Vol. 12 (Published by the Biological Laboratory, Cold Spring Harbor, New York) ($7.00).

Die Sauna, von V. R. Ott (Benno Schwabe & Co., Basel 1948) (sFr. 15.—).

Das männliche Hormon, von P. de Kruif (Orell Füßli Verlag, Zürich 1947) (214 pp.).

La streptomycine et ses applications thérapeutiques, par C. Levaditi (Presses documentaires, Paris 1947) (fr. fr. 350).

Narcose et Sommeil, par G. Mansfeld (F. Roth & Cie, Lausanne 1947) (35 pp.).

Beiträge zur Kenntnis der Blutgerinnung, von W. K. Rieben (Benno Schwabe & Co., Basel 1947) (sFr. 9.—).

Chemical and Physical Investigations of Dairy Products, by H. Eilers, R. N. J. Saal, M. van der Waarden (Elsevier Publishing Co., Amsterdam, 1947) (Monographs on the Progress of Research in Holland during the War, No. 12).

L'orientamento professionale dei giovani nelle scuole, di A. Gemelli (Edizioni dell'Università cattolica del sacro cuore) (Società editrice «Vita e Pensiero», Milano 1947).

Eine neue Methode zur Wärmebedarfsberechnung, von E. Gerber, mit einer Spezialrechenscheibe in der Beilage (In Kommission bei Rascher-Verlag, Zürich 1947) (38 pp.).

Informations - Informationen - Informazioni - Notes

Eindrücke von einer Amerikareise

(März—Oktober 1947)[1]

Die Veranlassung zur Reise nach den Vereinigten Staaten und des dortigen Aufenthaltes bildete eine Einladung von Professor Linus Pauling, Direktor des Chemischen Institutes des California Institute of Technology in Pasadena bei Los Angeles (Kalifornien), eine Zeitlang an seinem Institut zu arbeiten. Der Zweck war, die modernen Methoden der *Strukturchemie,* nämlich die *Kristallstrukturanalyse mittels Röntgenstrahlen* und die *Molekularstrukturanalyse mittels Elektronenstrahlen* in ihren neuesten Entwicklungen kennenzulernen; außerdem durch Besuch von mineralogischen, physikalischen und chemischen Laboratorien mit neuen Methoden und Apparaten vertraut zu werden, sowie die amerikanischen Kollegen kennenzulernen.

Die Reise, welche eine Gesamtlänge von etwa 30000 km hatte, führte zuerst nach Göteborg in Schweden, wo ich das Institut für Silikatchemie und Kernchemie besuchte; von dort per Schiff nach New York, und in direktem Wagen zuerst durch das Industriegebiet des Ostens, dann durch das Steppengebiet des zentralen Teiles von

[1] Vortrag mit Lichtbildern, gehalten in der Naturforschenden Gesellschaft Bern am 23. Januar 1948.

USA. und schließlich durch die Küstenberge hinab nach Kalifornien.

Das *California Institute of Technology* (C.I.T.) in Pasadena, von jedermann Caltech genannt, ist eine technische Hochschule von sehr hohem Niveau, eine der Spitzenhochschulen der USA. auf naturwissenschaftlichem Gebiet. Die Zahl der Studenten ist relativ klein (etwa 1700); es ist eine Hochschule, bei der die wissenschaftliche Forschung eine zentrale Stellung einnimmt. Folgende Abteilungen sind vorhanden: Biologie, Chemie und Ingenieurchemie, Bau- und Maschineningenieurwesen und Aeronautik, Geologie und Mineralogie, Geisteswissenschaften (Humanities), Physik-Mathematik und Elektroingenieurwesen, Physical Education; Astrophysik. Das C.I.T. geht auf die 1891 gegründete Throop University zurück. Wenn man zum Beispiel erfährt, daß das erste chemische Laboratorium im Jahre 1916 eingerichtet wurde und die Qualität und Größe der jetzigen chemischen Abteilung berücksichtigt, erkennt man die außerordentliche Entwicklung, welche das C.I.T. während der letzten 30 Jahre durchgemacht hat.

Die *Gates and Crellin Laboratories of Chemistry* weisen einen Stab von etwa 80 Mitarbeitern (Professoren, Forschungswissenschaftler und Assistenten) auf. Im Unterricht werden alle Fächer gleichmäßig behandelt. Bei der Forschung stehen zum Teil die strukturchemischen Fragen im Vordergrund, wobei diese von der Atom- über die Molekül- und Kristallstruktur bis zu biochemisch-biologischen Strukturen reichen. Wir selbst haben an der Kristallstrukturbestimmung einer Aminosäure mittels Röntgenstrahlen gearbeitet, die Molekularstruktur eines Kohlenwasserstoffes mittels Elektronenstrahlen[1] bestimmt und ein kristallgeometrisches Problem[2] gelöst[3]. – Am biologischen Institut wird – soweit ich einen Einblick erhielt – speziell über Genetik, Pflanzenphysiologie und Embryologie gearbeitet. Am physikalischen Institut stehen u.a. Probleme der Kernphysik und der Höhenstrahlung im Vordergrund des Interesses. Hier entdeckte Anderson 1932 das Positron (^{+}e) und zusammen mit Neddermeyer 1936 das Meson. Auf mathematischem und astrophysikalischem Gebiete sind auch unsere Landsleute, die Professoren Bohnenblust und Zwicky erfolgreich tätig. Die Mineraliensammlung des geologischen Institutes enthält viele schöne Stücke von seltenen kalifornischen Mineralien. In einer Autostunde ist das Observatorium auf dem Mount Wilson und in etwa sechs Stunden dasjenige auf Mount Palomar, wo jetzt das Teleskop mit dem 200-Inch-Spiegel errichtet wird, zu erreichen.

Unmittelbar an Pasadena anschließend, in San Marino, befindet sich die berühmte Huntington Library, welche in einem wunderschönen Park – mit besonderen Palmen- und Kakteengärten – gelegen, eine Forschungsstätte speziell für englische Literatur und Geschichte ist. Sie besteht aus Bibliothek und einer Gemäldegalerie mit hauptsächlich englischen Werken des 18. Jahrhunderts. – Der Landschaftscharakter von Pasadena, das auf der geographischen Breite von Sizilien liegt, und seiner unmittelbaren Umgebung entspricht vielleicht demjenigen von Norditalien oder Spanien.

Im Herbst trat ich dann eine große Reise durch die Staaten an. Zuerst ging es von Los Angeles in 10stündiger Eisenbahnfahrt anfänglich dem Pazifischen Ozean entlang nach San Francisco und Berkeley. Dabei passiert man Palo Alto mit der Stanford University, an der auch einige Schweizer wirken. Von San Franzisko gelangt man über die großartige Oakland Bridge über die Bai nach Berkeley. Die Universität (University of California, zum Teil auch in Los Angeles befindlich) ist an einem Bergabhang gelegen, mit Blick auf die Bai, die Oakland Bridge und das Golden Gate, welches die Bai vom Stillen Ozean trennt. Berkeley ist der Ort, wo Lawrence 1929 das erste Zyklotron konstruierte, welches zur Erzeugung äußerst schneller Materieteilchen, die zu Kernreaktionen Anlaß geben, verwendet wird. Es hatte einen Durchmesser von 37 Inches und erzeugte Deuteronen mit einer Energie, die einer Potentialdifferenz von $7 \cdot 10^6$ V entsprechen; das nächste wies 60 Inches und $20 \cdot 10^6$ V auf, und das neueste hat 184 Inches und $200 \cdot 10^6$ V. Ein Synchrotron (etwa $1000 \cdot 10^6$ V), ein Betatron und ein linearer Akzelerator befinden sich im Bau. Hier entdeckten McMillan und Abelson 1940 das Element Neptunium (Np, Ordnungszahl 93) und Seaborg die Elemente Plutonium (Pt, 94), Americium (Am, 95) und Curium (Cm, 96). Das neue große Zyklotron soll eine Gruppe von etwa 500 Wissenschaftlern beschäftigen. – Mein Besuch galt außerdem dem mineralogischen, chemischen und metallurgischen Institut, wo überall kristallstrukturell gearbeitet wird. Berkeley ist eine sehr gute und auch eine der größten Universitäten der Staaten, weist sie doch etwa 23000 Studenten auf und wird hierin wohl nur von der Columbia University in New York mit bis gegen 30000 Studenten übertroffen. – Ein sehr gutes Röntgenlaboratorium befindet sich in einem der vier agrikulturchemischen Institute, welche die Staaten unterhalten, in Albany bei Berkeley (Western Regional Research Laboratory). Entsprechend der speziellen Arbeitsrichtung werden dort hauptsächlich Proteine untersucht. Das Institut besitzt eine physikalische, physikalisch-chemische und chemische Abteilung.

Die Fahrt von San Francisco nach Chicago führt anfänglich durch die Sierra Nevada, wobei man bis etwa 2000 m steigt weiter durch den Staat Nevada nach Salt Lake City und in ziemlich gerader Linie nach Chicago, wo es gleich weiter nach Rochester (N.Y.) zu einem Besuch eines Teils der Forschungslaboratorien der Eastman Kodak Company ging. Röntgenapparate, Elektronenmikroskop, Elektronenbeugungsapparat, Massenspektrograph usw. gehören heute zum Bestand eines modernen großindustriellen Forschungslaboratoriums. Das Stickstoffisotop N^{15} und das Kohlenstoffisotop C^{13} sind als NH_4NO_3 bzw. KCN bereits käuflich erhältlich. Hier wurde eine interessante optische Methode zur Fourieranalyse von Kristallen entwickelt. – Nicht weit von Rochester, in Schenectady (N.Y.) sind die Werke der General Electric Company gelegen, welche ebenfalls große Forschungslaboratorien besitzen, aus denen kürzlich ein beachtenswerter theoretischer Beitrag zur Methodik der Kristallstrukturbestimmung hervorgegangen ist. Das Betatron mit einem 130-Tonnen-Magnet erzeugt Röntgenstrahlen von $100 \cdot 10^6$ V, mit denen Panzerplatten von 50 cm Dicke durchstrahlt werden können. Auf chemischem Gebiet ist die Entwicklung der Silizium-Kohlenstoff-Verbindungen, der Silikone, durch die G.E.C. zu erwähnen.

Das Massachusetts Institute of Technology (M.I.T.) und die Harvard University, die älteste Universität der Vereinigten Staaten, in Cambridge (Mass.) besitzen fünf Feinstrukturlaboratorien: im kristallographischen Laboratorium des Geologischen Institutes des M.I.T. werden hauptsächlich Kristallstrukturen von Sulfiden und Sili-

[1] W. Nowacki und W. Hedberg, An electron diffraction investigation of the structure of adamantane. J. Am. Chem. Soc., in press (1948).

[2] W. Nowacki, Über Ellipsenpackungen in der Ebene (erscheint demnächst).

[3] Näheres über Unterricht und Forschung an den Gates and Crellin Laboratories siehe den Artikel von E. H. Swift, J. Chem. Education *24*, 574 (1947).

katen bestimmt. Es ist instrumentell erstklassig ausgestattet; im physikalischen Institut des M.I.T. werden Probleme der Ordnung-Unordnung bei Kristallstrukturen röntgenographisch unter Verwendung von Geiger-Müller-Spitzenzählern zur genauen Intensitätsmessung behandelt; im biologischen Institut des M.I.T. werden die Röntgenfeinstrukturuntersuchungen an Muskelfasern parallel denen im Elektronenmikroskop ausgeführt, was gestattet, die Dichteverteilung parallel einer Faser auf zwei völlig unabhängige Weisen zu ermitteln; die röntgenographischen Arbeiten am mineralogischen Institut der Harvard University behandeln mehr Fragen der Gitterkonstanten- und Raumgruppenbestimmung und Identitätsnachweise von Mineralien, im Zusammenhang mit der Bearbeitung des «neuen *Dana*», der «Bibel der Mineralogen». Hier befindet sich auch eine der drei schönsten Mineraliensammlungen der USA.; die beiden andern sind in Philadelphia und Washington (D.C.). Das neueste Röntgenlaboratorium, speziell für Proteine, ist die Harvard Medical School im Begriffe einzurichten.

Dicht bei Philadelphia befindet sich das Bryn Mawr College, in dessen physikalischem Institut das mathematisch interessante Problem der Vieldeutigkeit bei der Bestimmung von Kristallstrukturen behandelt wird. – In Industrie- und Hochschullaboratorien wird zur Messung der Intensität der gestreuten Röntgenstrahlen jetzt sehr viel der Geiger-Müller-Zähler mit Brown Recorder verwendet, der uns in den Laboratorien der North American Philips Company in Neuyork erläutert wurde. Im Geophysical Laboratory in Washington, D.C., zum Beispiel, wo silikatische Mehrstoffsysteme untersucht werden, dient er zum Nachweis und zur Identifikation von Kristallarten; im Institute for the Study of Metals der Universität Chicago zur Verfolgung der Eigenschaften von Metallen bei verschiedenen, insbesondere sehr tiefen Temperaturen usw. – Die Bell Telephone Laboratories sind, soweit ich Einblick erhielt, fast ganz dem Studium der Kristallphysik gewidmet, wobei die piezoelektrischen Kristalle im Vordergrund des Interesses stehen. – Im Feinstrukturlaboratorium des Polytechnic Institute of Brooklyn (N.Y.) werden besonders biologisch und technisch wichtige faserförmige Stoffe untersucht, um auch hier dem Aufbau der Proteine näherzukommen. – Die mit der Strukturbestimmung einer komplexen organischen Substanz und diejenige bei der Molekularstrukturbestimmung mittels Elektronenstrahlen verbundene erhebliche Rechenarbeit wird in Pasadena mittels Lochkarten der International Business Machines (I.B.M.) Corporation ausgeführt. Die Anregung dazu ging vom Watson Laboratory in New York aus, einem Institut für angewandte Mathematik, das in Verbindung mit der Columbia University und der I.B.M. Corporation die Entwicklung moderner Rechenhilfsmittel fördert. – In Washington, D.C., befinden sich viele ausgezeichnete staatliche Forschungsstätten, darunter zum Beispiel das National Institute of Health mit einem der besten Laboratorien für Elektronenmikroskopie; das Bureau of Plant Industry, Soils, and Agricultural Engineering, wo die Methoden der Verwendung von radioaktivem Phosphor ausgedehnte Anwendung finden. Leider war es mir aus Zeitmangel nicht möglich, das National Bureau of Standards und die U.S. Naval Research Laboratories zu besuchen. – Ein Vortrag über «Die Verteilung der Kristallstrukturen über die 219 Raumgruppen und die allgemeinen Bauprinzipien organischer Verbindungen» am Polytechnic Institute in Auburn (Alabama) (in der Nähe von New Orleans) führte mich weit nach dem Süden der Staaten, wo in einem sehr gut eingerichteten Röntgenlabor über Kristallstrukturen von Zuckern gearbeitet wird. Da inzwischen das Wintersemester begonnen hatte, konnten noch Vorträge an der Purdue University, dessen physikalisches Institut sehr vielseitig tätig ist, u.a. auch auf dem Gebiet der Kristallphysik (Halbleiter), in Lafayette, Ind., bei Chicago und bei der Rückkehr durch Frankreich an der Sorbonne in Paris gehalten werden. Mit dem Besuch einiger französischer Laboratorien fand diese sehr schöne und interessante Reise, von der hier ein kleiner Ausschnitt gegeben wurde, ihren Abschluß.

Ich möchte auch an dieser Stelle nicht verfehlen, Herrn Professor Linus Pauling, der American-Swiss Foundation for Scientific Exchange, der Stiftung zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung an der Bernischen Hochschule und der Regierung des Kantons Bern für Einladung, Unterstützung und Urlaub meinen besten Dank auszusprechen.

W. Nowacki

Tschechoslowakei

Neue wissenschaftliche Institute

Seit der Wiedereröffnung der Prager Karls-Universität im Mai 1945, sind folgende neue Universitäts-Institute gegründet worden:

Genetisches Institut – Leiter Prof. Dr. Karel Hrubý, Praha II. Viničná 5.

Mikrobiologisches Institut – Leiter Prof. Dr. Jan Kořínek, Praha II, Viničná 5.

Zoophysiologisches Institut – Leiter Doc. Dr. Karel Wenig, Praha II, Viničná 7.

Abteilung für Hydrobiologie und Ichthyologie – Leiter Prof. Dr. Karel Schäferna, Praha II, Viničná 7.

Abteilung für Parasitologie und Protistologie – Leiter Prof. Dr. Otto Jírovec, Praha II, Viničná 7.

Institut für Hirnforschung – Leiter Prof. Dr. V. Hašek ovec, Praha II, Presslova ulice, Hlavův ústav.

Institut für Arbeitsmedizin – Leiter Prof. Dr. J. Teisinger, Praha II, u všeobecné nemocnice.

O. Jírovec

Corrigenda

W. Steck und H. Hauser, Zur Histologie der Lungenveränderungen bei der Valléeschen Krankheit, Exper. *4*, fasc. 2, p. 76 (1948).

Es soll heißen, p. 77 oben, linke Kolonne, 3. Zeile: «Endothelablösungen» statt «Epithelablösungen; p. 77, rechte Kolonne, Summary, 1. Zeile: 7 lungs of horses suffering from other diseases.

I. Leusen, Influences des modifications simultanées de la concentration en ions K et Ca du liquide céphalo-rachidien sur le système vasomoteur, Exper. *4*, fasc. 4, p. 154 (1948).

La figure insérée à la page 154, colonne droite, a été reproduite par erreur et n'a aucune relation avec la communication de I. Leusen.

International Physical Meeting, Exper. *4*, fasc. 3, p. 120 (1948).

Correspondence is to be addressed not to the University of Zurich but to «Internationale Tagung für Physik in Zürich», Physikalische Gesellschaft, Gloriastraße 41, Zürich 7.

POLY-ALLERG

Polysaccharid-Aminosäuren-Komplex

Ad injectionem

Zur kausalen Therapie des Heufiebers und seiner Begleiterscheinungen

Originalpackungen zu 6 Ampullen à 5 ccm

Pharmazeutische Abteilung

CHEMISCHE FABRIK SCHWEIZERHALL

in Schweizerhalle (Baselland)

Pharmaceutica

SCHWEIZERHALL

SPÉCILLINE G

PÉNICILLINE G BLANCHE CRISTALLISÉE

(SEL DE SODIUM)

RHÔNE Specia POULENC

FABRICATION FRANÇAISE

- STABILITÉ A LA CHALEUR, A L'ÉTAT SEC
- LONGUE DURÉE DE CONSERVATION : 3 ANS
- ACTIVITÉ MAXIMUM : 1600 U.O par mg.
- INJECTIONS INDOLORES

Flacons de 100.000 U.O., 200.000 U.O.
Flacons de 500.000 U.O.

SOCIÉTÉ PARISIENNE D'EXPANSION CHIMIQUE

Specia

MARQUES POULENC FRÈRES & USINES DU RHÔNE

21, RUE JEAN GOUJON - PARIS 8e